

# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos



## TESIS DOCTORAL

Elaboración de jamones curados y cocidos enriquecidos en ácidos grasos  
n-3 y tocoferoles

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Carlos Santos Arnaiz

Directores

Juan Antonio Ordóñez Pereda

Lorenzo de la Hoz Perales (†)

**Madrid, 2012**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN, BROMATOLOGÍA Y  
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**ELABORACIÓN DE JAMONES CURADOS Y  
COCIDOS ENRIQUECIDOS EN ÁCIDOS GRASOS  
n-3 Y TOCOFEROLES**

Memoria que, para optar al  
grado de doctor, presenta el  
Licenciado Carlos Santos  
Arnaiz.

Madrid, 2011





**Departamento de Nutrición, Bromatología y  
Tecnología de los Alimentos**

**Facultad de Veterinaria**

Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid  
Teléfono: 91 3943749. Fax: 91 3943743

JUAN ANTONIO ORDÓÑEZ PEREDA, catedrático de Tecnología de los Alimentos y profesor de este Departamento

**CERTIFICA:**

Que la Tesis Doctoral titulada **"Elaboración de jamones curados y cocidos enriquecidos en ácidos grasos n-3 y tocoferoles"** presentada por el licenciado en Veterinaria Don Carlos Santos Arnaiz para optar al grado de Doctor, ha sido dirigida conjuntamente por el catedrático Don Lorenzo de la Hoz Perales (fallecido el 31 de marzo del presente año) y el que suscribe. Esta tesis ha sido realizada en dicho Departamento y cumple las condiciones exigidas por la normativa vigente para optar al grado de Doctor siendo, por tanto, apta para ser juzgada por el tribunal que se nombre a tal fin.

Para que conste a los efectos oportunos, firma el presente escrito en Madrid, a 20 de diciembre de 2011.

Juan Antonio Ordóñez Pereda







## **Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos**

### **Facultad de Veterinaria**

Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid  
Teléfono: 91 3943749. Fax: 91 3943743

El trabajo experimental que ha dado lugar a esta memoria ha sido realizado en el Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y financiado mediante los proyectos de investigación:

- Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT). ALI98-0705. Elaboración de productos cárnicos enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 (trabajo descrito en los artículos I y II).
- Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT). AGL2000-0050-P4-02. Elaboración de jamones serranos enriquecidos en vitamina E y ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 (trabajo descrito en los artículos I, II, III, IV y V).
- Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT). AGL2003-05803. Efecto cualitativo y cuantitativo de la ingesta calórica y del ciclo productivo en las características de productos cárnicos ibéricos curados (jamón y lomo) (trabajo descrito en los artículos III, IV y V).



# AGRADECIMIENTOS

Al concluir esta investigación, he pensado que hermanar el concepto "tesis = trabajo personal" con la realidad "tesis = el trabajo que más colaboración requiere por parte de todos los que nos rodean", no es difícil. Uno necesita desde la siembra de la inquietud hasta el soporte familiar, pasando por un sinnúmero de escalones intermedios que sólo son posibles (o al menos no se aprecian como escalones hacia arriba) si se cuenta con una persona que sin esfuerzo aparente es capaz de mantener un grupo con una cohesión tal, que parece como si el problema de uno fuera un problema de todos.

Es por ello que quiero hacer extensivos mis agradecimientos a las siguientes personas:

En primer lugar, a Don Juan Antonio Ordóñez por su acogida en el Departamento y su dirección de la presente Tesis Doctoral, labor esta última que ha compartido con Don Lorenzo de la Hoz, recientemente fallecido y cuya enorme calidad humana y agudeza a la hora de afrontar las dificultades nunca olvidaré. Sin embargo, sería injusto y me quedaría corto si solo me remitiera a agradecerles su labor de dirección. Es por ello que también les doy las gracias por su apoyo e implicación en los momentos más difíciles, por su orientación en el mundo de la investigación, por la supervisión de mi formación tanto docente como investigadora y por su paciencia ante mis equivocaciones.

A Doña María Isabel Cambero cuya participación en el origen y desarrollo de esta Tesis Doctoral –sobre todo en sus primeras fases– ha resultado decisiva. A esto habría que añadir las semillas que "implantó en mi mente" y que consiguieron despertarme el interés por la Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Dicho interés comenzó desde que tuve el privilegio de ser alumno suyo de licenciatura y no ha dejado de crecer hasta el presente. Su buen hacer, unido al de los doctores Ordóñez y de la Hoz me lleva a considerarles –a los tres– como mis "padres en la investigación", pues no solo han sido piezas

clave en mi formación científica sino también en mi madurez como persona.

A las doctoras Manuela Fernández, Eva Hierro, Carmen Pin, Matilde D'Arrigo y Beatriz Herranz, por sus enseñanzas que me permitieron desenvolverme en el laboratorio y realizar la mayor parte de las técnicas analíticas empleadas. Enseñanzas que compatibilizaron con altas dosis de paciencia, amabilidad y buen humor durante mi aprendizaje.

Al profesor Clemente López-Bote por echarme una mano con algunas técnicas analíticas y por sus agudas y útiles observaciones en lo que a la presente investigación se refiere.

A los doctores/as Leónides Fernández, María Dolores Selgás, María Luisa García, Gonzalo García y Carmen San José, por su buena predisposición e implicación a la hora de solventarme dudas puntuales, aunque no por ello menos importantes, y por su buen compañerismo y simpatía.

A Aurora Blanco y Alberto Álvarez, por esas pequeñas ayudas que, al ser tan frecuentes, se han convertido en indispensables para llevar la Tesis Doctoral por buen camino y para afrontar los diversos trámites e inconvenientes que han ido surgiendo en este tiempo.

A mis amigas del Departamento Belén Orgaz, Raquel Velasco, Conchita Cabeza y Susana Manzano, por todos esos buenos momentos que hemos compartido tanto dentro como fuera de la facultad. Con vuestro apoyo las dificultades se han pasado volando y/o se han hecho menos cuesta arriba. Con vuestra amistad el trabajo se ha tornado más sencillo y agradable.

A mis amigos/as que ya no están en el Departamento: Ana del Olmo, Juliana Kives, Antonio Fernández, Jesús Ross y Ester Cáceres, excelentes personas con las que he tenido la gran oportunidad de compartir centro de trabajo.

A los profesores Eduardo Costas y Victoria López, de los cuales quiero mencionar su entusiasmo contagioso por el mundo de la ciencia, su trato cordial y sus grandes conocimientos en materia científica tanto a nivel general como en su propia parcela de

investigación. Gracias por vuestros consejos, vuestras siempre interesantes conversaciones y vuestras ayudas.

A Fernando Arnaiz, por inculcarme desde pequeño la relevancia del esfuerzo, del aprendizaje continuo y de la adquisición de una formación cultural y científica. Pero, por encima de todo, por inculcarme la importancia –muy superior– de ser una buena persona. Igualmente, le agradezco el apoyo y seguimiento cercano que ha hecho de mis progresos a lo largo de la vida.

En general, quiero agradecerle especialmente a mi familia su amparo, comprensión y paciencia durante esta investigación. Ella ha sido un pilar de apoyo esencial en toda mi vida. En consecuencia, desde aquí le doy infinitas gracias por haberme proporcionado cariño y educación desinteresados desde la infancia, sin los cuales es seguro que no podría haber llevado a cabo esta Tesis Doctoral.

Para terminar, a la gran cantidad de personas de toda índole profesional y social que han soportado de buen talante las pequeñas molestias que las exigencias de una metodología imponen, y que me han hecho más agradable, si cabe, el trabajo en el mundo de la investigación.

A **TODOS**, gracias.



No creáis en nada simplemente  
porque lo diga la tradición, ni  
siquiera aunque muchas generaciones  
de personas nacidas en muchos  
lugares hayan creído en ello durante  
muchos siglos.

No creáis en nada por el simple hecho  
de que muchos lo crean o finjan que  
lo creen.

No creáis en nada solo porque así lo  
hayan creído los sabios en otras épocas.

No creáis en lo que vuestra propia  
imaginación os propone cayendo en  
la trampa de pensar que Dios os  
inspira.

No creáis en lo que dicen las sagradas  
escrituras solo porque ellas lo digan.

No creáis a los sacerdotes ni a ningún otro  
ser humano.

Creed únicamente en lo que vosotros mismos habéis  
experimentado, verificado y aceptado después de someterlo  
al dictamen de la razón y a la voz de la conciencia.

**Siddhartha Gautamá**





A mi madre



# ÍNDICE

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS.....	2
-------------------------------	---

INTRODUCCIÓN.....	10
-------------------	----

1. GENERALIDADES EN EL ESTUDIO DE LOS LÍPIDOS.....	12
1.1. DEFINICIÓN DE LÍPIDO.....	13
1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS LÍPIDOS.....	14
1.3. ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LOS ÁCIDOS GRASOS..	16
1.3.1. DEFINICIÓN, NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS.....	16
1.3.1.1. Definición.....	16
1.3.1.2. Nomenclatura.....	16
1.3.1.3. Clasificación.....	18
1.3.2. BIOSÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS GRASOS.....	18
1.3.2.1. Biosíntesis de los ácidos grasos de cadena corta.....	18
1.3.2.2. Biosíntesis de los ácidos grasos de cadena media y larga.....	19
1.3.2.2.a. Síntesis <i>de novo</i> .....	19
1.3.2.2.b. Elongación y desaturación.....	20
A. Elongación.....	20
B. Desaturación.....	21
1.3.3. OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS.....	26
1.4. FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS LÍPIDOS.....	27
1.4.1. ALMACENAMIENTO ENERGÉTICO.....	27
1.4.2. FUNCIÓN ESTRUCTURAL DE LA MEMBRANA CELULAR...	28
1.4.3. AISLAMIENTO DEL AGUA.....	29
1.4.4. ACTIVIDAD HORMONAL.....	29
1.4.5. MEDIACIÓN QUÍMICA.....	29
1.4.6. TRANSPORTE DE ELECTRONES.....	29

1.4.7. SÍTESIS DE GLICOPROTEÍNAS.....	30
1.4.8. TERMORREGULACIÓN.....	30
1.5. IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN LA NUTRICIÓN HUMANA.....	31
1.5.1. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y NO ESENCIALES.....	31
1.5.2. IMPORTANCIA DE LA INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN LA DIETA, CON ESPECIAL REFERENCIA A LOS DE LA FAMILIA n-3.....	33
1.5.2.1. Importancia en la incidencia de determinadas patologías cardiovasculares.....	33
1.5.2.2. Importancia en la producción de eicosanoides.....	36
1.5.3. PROBLEMÁTICA ACTUAL EN EL CONSUMO DE ÁCIDOS GRASOS.....	43
1.6. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CUANTÍA Y DISTRIBUCIÓN DE LA GRASA EN ANIMALES DE ABASTO, CON ESPECIAL REFERENCIA AL CERDO.....	52
1.6.1. FACTORES ENDÓGENOS.....	52
1.6.1.1. Genética.....	52
1.6.1.2. Zona anatómica.....	53
1.6.1.3. Edad.....	53
1.6.1.4. Sexo.....	54
1.6.2. FACTORES EXÓGENOS.....	54
1.6.2.1. Temperatura.....	54
1.6.2.2. Dieta.....	54
1.6.2.3. Castración.....	55
1.6.2.4. Actividad física.....	56
1.6.2.5. Sustancias promotoras del crecimiento.....	57
1.7. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE ANIMALES DE ABASTO, CON ESPECIAL REFERENCIA AL CERDO.....	58
1.7.1. FACTORES ENDÓGENOS.....	58
1.7.1.1. Genética.....	58
1.7.1.1.a. En cuanto a especies ganaderas.....	58
1.7.1.1.b. En cuanto a razas e híbridos porcinos.....	59

1.7.1.2. Sexo.....	61
1.7.1.3. Zona anatómica.....	61
1.7.1.4. Edad.....	62
1.7.2. FACTORES EXÓGENOS.....	62
1.7.2.1. Dieta.....	62
1.7.2.2. Castración.....	63
1.8. ESTRATEGIAS PARA MODIFICAR EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LA CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS DEL CERDO.....	65
1.8.1. ADICIÓN DIRECTA DE ÁCIDOS GRASOS EN EL PRODUCTO.....	65
1.8.2. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS A TRAVÉS DE LA DIETA.....	66
1.8.3. APLICACIÓN DE TÉCNICAS GENÉTICAS.....	69
2. LA VITAMINA E COMO AGENTE ANTIOXIDANTE.....	71
2.1. GENERALIDADES DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	72
2.2. ANTIOXIDANTES DE USO ALIMENTARIO.....	78
2.2.1. DEFINICIÓN.....	78
2.2.2. CLASIFICACIÓN.....	78
2.2.2.1. Antioxidantes tipo I.....	78
2.2.2.2. Antioxidantes tipo II.....	79
2.2.2.3. Antioxidantes tipo III.....	79
2.2.3. TENDENCIAS EN LA UTILIZACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES.....	80
2.3. VITAMINA E.....	81
2.3.1. ESTRUCTURA QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y OTRAS FUNCIONES BIOLÓGICAS.....	81
2.3.1.1. Estructura química.....	81
2.3.1.2. Actividad antioxidante y otras funciones biológicas.....	82
2.3.1.2.a. Actividad antioxidante.....	83
2.3.1.2.b. Otras funciones biológicas.....	84

2.3.2. FORMAS DE ADICIONAR LA VITAMINA E AL ALIMENTO.....	84
2.3.3. DEPOSICIÓN TISULAR DE VITAMINA E CON ESPECIAL REFERENCIA AL CERDO.....	85
3. PRODUCCIÓN DE JAMÓN CURADO Y COCIDO.....	86
3.1. DEFINICIÓN DEL PRODUCTO.....	87
3.1.1. JAMÓN CURADO.....	87
3.1.2. JAMÓN COCIDO.....	87
3.2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS EN LA PRODUCCIÓN DE JAMÓN CURADO.....	89
3.3. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO.....	93
3.3.1. OBTENCIÓN DEL PERNIL.....	93
3.3.2. TRANSFORMACIÓN DEL PERNIL EN JAMÓN.....	93
3.3.2.1. Salazonado o salazón.....	93
3.3.2.1.a. Procedimientos de salazonado.....	94
A. Salazón por apilación tradicional.....	94
B. Salazón por apilación en contenedores.....	94
C. Salazón por aporte limitado de sal.....	94
D. Salazón por salmuera.....	95
3.3.2.1.b. Efectos del salazonado.....	95
A. Efectos debidos a las sales de curado (nitritos y nitratos).....	95
B. Efectos debidos a la sal común.....	96
3.3.2.2. Lavado y moldeado.....	98
3.3.2.3. Postsalado.....	98
3.3.2.4. Secado-maduración.....	99
3.3.2.4.a. Generalidades del secado y la maduración.....	99
3.3.2.4.b. Principales fenómenos físicos, químicos y microbianos que acontecen durante el secado y la maduración.....	100
A. Exudación lipídica.....	100
B. Deshidratación.....	100

C. Actuación microbiana.....	101
D. Reacción de Maillard y degradación de Strecker.....	102
E. Actuación de enzimas endógenas.....	102
F. Oxidación lipídica.....	104
3.4. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN COCIDO.....	106
3.4.1. CLASIFICACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	106
3.4.1.1. Peso.....	106
3.4.1.2. Espesor de la grasa de cobertura.....	106
3.4.1.3. pH a las 24 horas post-sacrificio.....	107
3.4.1.4. Otras determinaciones.....	107
3.4.2. DESHUESADO Y DESPIECE.....	107
3.4.3. SALAZÓN O SALAZONADO.....	108
3.4.3.1. Métodos de salazón.....	108
3.4.3.1.a. Salazón húmeda.....	108
3.4.3.1.b. Salazón "más seca".....	108
3.4.3.2. Importancia de los polifosfatos.....	109
3.4.4. REPOSO EN CUBAS DE INMERSIÓN.....	109
3.4.5. TRATAMIENTO MECÁNICO.....	109
3.4.5.1. Propósito del tratamiento mecánico.....	109
3.4.5.2. Métodos de tratamiento mecánico.....	110
3.4.6. REPOSO EN CUBAS.....	110
3.4.7. MOLDEADO.....	111
3.4.8. RELLENADO.....	111
3.4.9. DESGASEADO.....	111
3.4.10. PRENSADO.....	111
3.4.11. MADURACIÓN.....	112
3.4.12. COCCIÓN.....	112
3.4.12.1. Efectos de la cocción.....	112
3.4.12.2. Procedimiento de la cocción.....	112
3.4.13. REPRESADO.....	113
3.4.14. ENFRIAMIENTO.....	113



3.4.15. REPOSO EN MOLDE.....	114
3.4.16. ENVASADO.....	114
<b>JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.....</b>	<b>116</b>
1. LA INDUSTRIA CÁRNICA ESPAÑOLA.....	118
2. EL I+D+i EN PRODUCTOS CÁRNICOS.....	122
2.1. EL CECOC-PTC.....	123
2.2. ACTIVIDADES DE LA MODERNA INDUSTRIA CÁRNICA..	125
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL TRABAJO.....	126
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>132</b>
1. MATERIAL.....	134
1.1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	135
1.1.1. RACIONES EXPERIMENTALES.....	135
1.1.2. ANIMALES.....	140
1.1.2.1. Cuidado de los animales.....	140
1.1.2.2. Características de los alojamientos.....	140
1.1.2.3. Sacrificio de los animales.....	141
1.1.3. JAMONES, LOMOS CURADOS Y SOLOMILLOS.....	141
1.1.3.1. Fabricación de los jamones cocidos.....	141
1.1.3.1.a. Lote T=0 (tiempo cero).....	141
1.1.3.1.b. Lote T=1 (tiempo uno).....	142
1.1.3.2. Fabricación de los jamones curados.....	142
1.1.3.3. Fabricación de los lomos curados.....	143
1.1.3.3.a. Lote T=0 (tiempo cero).....	143
1.1.3.3.b. Lotes T=1 y T=4 (tiempo uno y tiempo cuatro)...	144
1.1.3.4. Obtención de los solomillos.....	144
1.1.4. MUESTRAS.....	144

1.1.4.1. Procedentes de los jamones cocidos.....	144
1.1.4.2. Procedentes de los jamones curados.....	145
1.1.4.3. Procedentes de los lomos curados.....	145
1.1.4.4. Procedentes de los solomillos.....	145
1.2. MATERIAL DE LABORATORIO.....	146
1.2.1. MATERIAL GENERAL DE LABORATORIO.....	146
1.2.2. MATERIAL ESPECÍFICO EMPLEADO EN LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y SENSORIALES.....	148
1.2.2.1. Patrones.....	148
1.2.2.2. Reactivos y disolventes.....	148
1.2.2.3. Gases.....	148
1.2.2.4. Material empleado en la determinación de humedad, cenizas y actividad de agua ( $a_w$ ).....	148
1.2.2.5. Material cromatográfico.....	149
1.2.2.5.a. Cromatografía de gases (GC).....	149
1.2.2.5.b. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) .....	150
1.2.2.6. Material reológico.....	151
1.2.2.7. Material para análisis sensorial.....	152
1.2.2.8. Material empleado en la determinación de proteínas .....	152
1.3. MATERIAL PARA ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	153
2. MÉTODOS.....	156
2.1. METODOLOGÍA EMPLEADA EN LOS ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICOS.....	157
2.1.1. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS LÍPIDOS....	157
2.1.2. DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	158
2.1.2.1. Oxidación inducida.....	158
2.1.2.2. Oxidación no inducida (índice TBARS).....	160
2.1.3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO PROTEICO.....	161
2.1.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA.....	162
2.1.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA ( $a_w$ )....	163

2.1.6. DETERMINACIÓN DEL pH.....	163
2.1.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO MINERAL TOTAL..	164
2.1.8. ANÁLISIS DE TEXTURA.....	164
2.1.8.1. Preparación de las muestras.....	164
2.1.8.2. Ensayo de compresión (TPA).....	164
2.1.8.3. Ensayo de corte.....	167
2.1.9. DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS...	168
2.1.9.1. Preparación de los ésteres metílicos.....	168
2.1.9.2. Condiciones cromatográficas.....	169
2.1.10. ESTIMACIÓN INSTRUMENTAL DEL COLOR.....	169
2.1.11. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA VITAMINA E .....	170
2.1.11.1. Extracción de la vitamina E.....	170
2.1.11.2. Detección, identificación y cuantificación de la vitamina E.....	170
2.2. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL ANÁLISIS SENSORIAL .....	172
2.2.1. PANEL DE CATADORES.....	172
2.2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	172
2.2.3. PRUEBA TRIANGULAR.....	173
2.2.4. PRUEBA PREFERENCIAL.....	174
2.3. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	175

## **RESULTADOS..... 176**

### **1. ARTÍCULO I**

Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle.....178

### **2. ARTÍCULO II**

Physicochemical characteristics of an  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol-enriched cooked ham.....186

3. ARTÍCULO III	
Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications.....	194
4. ARTÍCULO IV	
Fatty acids and sensory characteristics of Spanish dry-cured loin enriched in acid $\alpha$ -linolenic and $\alpha$ -tocopherol.....	202
5. ARTÍCULO V	
Enrichment of dry-cured ham with $\alpha$ -linolenic acid and $\alpha$ -tocopherol by the use of linseed oil and $\alpha$ -tocopheryl acetate in pig diets.....	210

## **DISCUSIÓN GENERAL.....220**

1. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS DEL CERDO.....	222
1.1. CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA FAMILIA n-3 EN DIVERSOS ALIMENTOS CONVENCIONALES.....	226
1.2. CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS PROCEDENTES DE CERDOS ALIMENTADOS CON PIENSOS ADICIONADOS CON ACEITE DE LINAZA .....	234
2. ASPECTOS NUTRICIONALES DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS ENRIQUECIDOS EN PUFAs n-3.....	245

## **CONCLUSIONES.....254**

## **BIBLIOGRAFÍA.....258**



# **ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS**



AA.....	<i>arachidonic acid</i> (ácido araquidónico)
Abs.....	absorbancia
a. C. ....	antes de Cristo
acetil CoA.....	acetil coenzima A
acil CoA desaturasa.....	acil coenzima A desaturasa
A-FABP (gen).....	<i>A-fatty acid binding protein</i> (gen) (proteína-A ligante de ácido graso [gen])
AG.....	ácido graso
ALA.....	<i>alpha linolenic acid</i> (ácido $\alpha$ -linolénico)
Aminopeptidasa PS.....	aminopeptidasa sensible a puromicina
AMP.....	<i>adenosin monophosphate</i> (adenosín monofosfato)
ANEP.....	Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva
AOAC.....	<i>Association of Official Analytical Chemists</i> (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales)
MARM.....	Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino
ATGL (gen).....	<i>adipose triglyceride lipase</i> (gen) (lipasa triglicérido adiposa [gen])
ATP.....	<i>adenosin triphosphate</i> (adenosín trifosfato)
$a_w$ .....	<i>water activity</i> (actividad de agua)
BHA.....	butilhidroxianisol
BHT.....	butilhidroxitolueno
BNF.....	<i>British Nutrition Foundation</i>
BSA.....	<i>bovine serum albumin</i> (albúmina sérica bovina)



CDTI.....	Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial
CECOC-PTC.....	Centro de Competencia Científico-Tecnológica en Productos Transformados de la Carne
CICYT.....	Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología
CLA.....	<i>conjugated linoleic acid</i> (ácido linoleico conjugado)
COX.....	ciclooxigenasa
CPT-1B (gen).....	<i>carnitine palmitoyltransferase-1B</i> (gen) (carnitina palmitoiltransferasa-1B [gen])
CRA.....	capacidad de retención de agua
d. C. ....	después de Cristo
DFD meat.....	<i>dark firm and dry meat</i> (carne oscura, firme y seca)
DHA.....	<i>docosahexaenoic acid</i> (ácido docosahexaenoico)
DOP.....	Denominación de Origen Protegida
DPA.....	<i>docosapentaenoic acid</i> (ácido docosapentaenoico)
E.....	energía
EDTA.....	<i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> (ácido etilendiaminotetraacético)
EFSA.....	<i>European Food Safety Authority</i> (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria)
EPA.....	<i>eicosapentaenoic acid</i> (ácido eicosapentaenoico)
ETG.....	Especialidad Tradicional Garantizada

FADH <sub>2</sub> .....	<i>reduced (H<sub>2</sub>) flavin adenine dinucleotide</i> (flavín adenín dinucleótido fosfato reducido)
FAO.....	<i>Food and Agriculture Organization</i> (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación)
FAS (gen).....	<i>fatty acid synthase</i> (gen) (ácido graso sintetasa [gen])
FDA.....	<i>Food and Drug Administration</i> (Agencia de Alimentos y Medicamentos)
FID.....	<i>flame ionization detector</i> (detector de ionización de llama)
GC.....	<i>gas chromatography</i> (cromatografía de gases)
GP.....	galato de propilo
GRAS.....	<i>generally regarded as safe</i> (generalmente considerado/a como seguro/a)
HDL.....	<i>high density lipoprotein</i> (lipoproteína de alta densidad)
H-FABP (gen).....	<i>fatty acid binding protein-A</i> (gen) (proteína-H ligante de ácido graso [gen])
HIMF.....	<i>hypoxia-induced mitogenic factor</i> (factor mitogénico inducido por hipoxia)
HOSO.....	<i>high oleic sunflower oil</i> (aceite de girasol rico en oleico)
HPLC.....	<i>high performance liquid chromatography</i> (cromatografía líquida de alta resolución)
HSL (gen).....	<i>hormone-sensitive lipase</i> (gen) (lipasa sensible a hormona [gen])
I+D+i.....	investigación, desarrollo e innovación
IGP.....	Indicación Geográfica Protegida

IUPAC.....	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada)
LA.....	<i>linoleic acid</i> (ácido linoleico)
LDL.....	<i>low density lipoprotein</i> (lipoproteína de baja densidad)
Linoleil CoA.....	linoleil coenzima A
Linolenil CoA.....	linolenil coenzima A
LOX.....	lipooxigenasa
LT.....	leucotrieno
Malonil CoA.....	malonil coenzima A
MUFA.....	<i>monounsaturated fatty acid</i> (ácido graso monoinsaturado)
NADPH.....	<i>reduced (H) nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> (nicotinamida adenín dinucleótido fosfato reducida)
ND.....	no detectado
NF-kB.....	<i>nuclear factor-kappa B</i> (factor nuclear kappa B)
Palmitoil CoA.....	palmitoil coenzima A
PG.....	prostaglandina
PLA <sub>2</sub> .....	<i>phospholipase A<sub>2</sub></i> (fosfolipasa A <sub>2</sub> )
PN.....	Plan Nacional
PPARα.....	peroxisome proliferator-activated receptor alpha (receptor alfa activado por proliferador de peroxisoma)
Propinil CoA.....	propinil coenzima A
PSE meat.....	<i>pale soft and exudative meat</i> (carne pálida, blanda y exudativa)

PTV injector.....	programmed temperature vaporizing injector (inyector vaporizador de temperatura programable)
PUFA.....	<i>polyunsaturated fatty acid</i> (ácido graso poliinsaturado)
REDOX.....	<i>reduction - oxidation</i> (reducción - oxidación)
Reductasa NADH-citocromo b5.....	reductasa nicotinamida adenín dinucleótido reducida-citocromo b5
SACN/COT.....	<i>Scientific Advisory Committee on Nutrition/Committee On Toxicity</i> (Comité Científico Asesor de Nutrición/Comité de Toxicidad)
SCD (gen).....	<i>stearoyl CoA desaturase</i> (gen) (estearoil coenzima A desaturasa [gen])
SFA.....	<i>saturated fatty acid</i> (ácido graso saturado)
SI.....	sin información
SR.....	sin recomendación
SREBP-1c.....	<i>sterol regulatory element-binding protein-1c</i> (proteína 1c ligante del elemento regulador de esteroles)
TBARS.....	<i>thiobarbituric acid reactive substances</i> (sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico)
TBHQ.....	ter-butilhidroquinona
TEP.....	1,1,3,3-tetraetoxipropano
TMP.....	<i>tocopherol-mediated peroxidation</i> (peroxidación mediada por tocoferol)
TNF- $\alpha$ .....	<i>tumor necrosis factor-alpha</i> (factor de necrosis tumoral-alfa)
TPA.....	<i>texture profile analysis</i> (análisis de perfil de textura)
Tr.....	traza

TX.....	tromboxano
USDA.....	<i>United States Department of Agriculture</i> (Departamento de Agricultura de Estados Unidos)
UV-VIS.....	ultravioleta-visible
VLDL.....	<i>very low density lipoprotein</i> (lipoproteína de muy baja densidad)
WHO.....	<i>World Health Organization</i> (Organización Mundial de la Salud)

# INTRODUCCIÓN

“Somos lo que comemos,  
pero sobre todo somos  
como comemos”.

Anónimo



## **1. GENERALIDADES EN EL ESTUDIO DE LOS LÍPIDOS**



## 1.1. DEFINICIÓN DE LÍPIDO

El Diccionario de la Lengua Española define los lípidos como *cada uno de los compuestos orgánicos que resultan de la esterificación de alcoholes, como la glicerina y el colesterol, con ácidos grasos*. (Diccionario RAE, 22 edición). Bloor (1943) precisó que los lípidos *son un grupo de sustancias naturales que incluye a los ácidos grasos, a los compuestos naturales de los mismos y a las sustancias naturales que se encuentran en asociación química con ellos*. Es decir, son todo compuesto constituido efectiva o potencialmente por ácidos grasos y los ácidos grasos mismos. Ambas definiciones resultan insuficientes desde un punto de vista bioquímico al ser difícil incluir en las mismas sustancias del tipo de los esteroides, ceras, terpenos, etc.

La definición aportada por Christie (2003) puede adecuarse más a tal propósito, puesto que los considera como *una amplia variedad de productos naturales, incluyendo ácidos grasos y sus derivados, esteroides, terpenos, carotenoides y ácidos biliares, que tienen en común una rápida solubilidad en solventes orgánicos tales como éter dietílico, hexano, benceno, cloroformo o metanol*. Se han confeccionado otras definiciones de los lípidos que se basan también en su liposolubilidad y son igualmente controvertidas, ya que los ácidos grasos de cadena muy corta (acético, propiónico y butírico) son solubles en agua del mismo modo que los gangliósidos y los jabones.

La *Food and Drug Administration* (FDA) abandonó las definiciones basadas en la solubilidad, optando por determinar que la grasa total de los alimentos es *el conjunto de componentes con características lipídicas que se extraen por los métodos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) o por procedimientos fiables y apropiados* (Schmidt y col., 1995). Dicha definición es legalmente muy satisfactoria pero continúa sin resultarlo en su totalidad desde un punto de vista bioquímico y, mucho menos, para legos en el tema.

Así pues, cabe decir que hasta el momento no existe una definición satisfactoria de los lípidos, al constituir estos un grupo de sustancias muy heterogéneo tanto en su estructura como en sus propiedades físico-químicas y origen.

## **1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS LÍPIDOS**

Desde que surgió la primera sistematización de los lípidos -que los dividía en tres grupos: lípidos simples (grasas y ceras), lípidos compuestos (fosfolípidos y glicolípidos) y lípidos derivados (ácidos grasos, esteroides y alcoholes) (Bloor, 1920)- los planteamientos propuestos para agruparlos en base a características comunes han sido muy diversos.

Una de las clasificaciones más utilizadas actualmente (Lehninger y col., 2001) divide los lípidos en tres grandes categorías, según sus funciones biológicas: lípidos de almacenamiento (o neutros), cuyos únicos representantes son los triacilglicerol; lípidos estructurales de membrana (o polares), tales como los glicolípidos, fosfolípidos y esfingolípidos; y lípidos con funciones biológicas específicas, entre los que destacan hormonas esteroides, vitaminas liposolubles (D, E, K, A), eicosanoides, etc.

Existen otras muchas sistematizaciones de los lípidos, entre las que cabe mencionar las aportadas por Hoffmann y Small (1967), Börgstrom (1974) (ver tabla I.1.) y Friedman y Nylund (1980). Todas ellas se basan en la forma de interaccionar con el agua. Otro patrón de clasificación, destacable por su sencillez, es la presencia o ausencia de glicerol en la molécula (Soares, 1999; McDonald y col., 1995).

También son relevantes las clasificaciones de lípidos en función de su composición química, como la aportada por Nawar (2000) (similar a la de Bloor, 1920) que es una de las más empleadas en Ciencia de los Alimentos.

A pesar de los numerosos intentos realizados, la mayor parte de los métodos de clasificación publicados son demasiado rígidos, o muy flexibles, en sus planteamientos. Así pues, una determinada clasificación no siempre satisfará a todos, ni la característica o propiedad en la que se fundamenta podrá definir con total claridad los tipos de moléculas que integran un mismo grupo. Por todo ello, se recomienda su empleo únicamente a título orientativo.

En esta memoria se ha escogido como representativa la clasificación de Borgström (1974):

**Tabla I.1. Clasificación de los lípidos y productos de su hidrólisis, según su capacidad de interaccionar con el agua y las sales biliares** (Borgström, 1974).

Clase de lípido	Forma de interaccionar con el agua	Solubilidad con las sales biliares
<b>A- Lípidos no polares</b>		
Hidrocarburos Ésteres de esteroides Ceras Ésteres de vitaminas	No interaccionan	Baja solubilidad micelar
<b>B- Lípidos polares</b>		
Clase I		
Triacilgliceroides Diacilgliceroides Ácidos grasos de cadena larga Esteroides Vitaminas D, E, K, A	No interaccionan	Baja solubilidad micelar
Clase II		
Fosfolípidos Glicolípidos Monoacilglicéridos Jabones ácidos	Muy baja solubilidad, forman cristales líquidos dando monocapas estables en la interfase	Forman micelas con una relación de sales biliares superior a 0,5
Clase III		
Jabones de ácidos grasos de cadena larga Lisofosfatidilcolina	Forman una solución micelar	Dan lugar a micelas en una fase líquida cristalina
Sales biliares	Forman soluciones micelares	Dan lugar a micelas en una fase sólida

## **1.3. ASPECTOS FUNDAMENTALES DE LOS ÁCIDOS GRASOS**

### **1.3.1. DEFINICIÓN, NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS**

#### **1.3.1.1. Definición**

La IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), que establece las reglas de química orgánica para la denominación de los ácidos grasos, los define como: "cualquiera de los ácidos alifáticos monocarboxílicos que pueden ser liberados por hidrólisis de los aceites y grasas naturales". A ese respecto, cabe puntualizar que el término vulgar "grasa" sugiere un producto blando de estructura tridimensional y de aspecto pegajoso/pringoso a temperatura ambiente (p. e. sebo, manteca, etc.). En cambio, "aceite" es el nombre vulgar que se aplica a una grasa líquida a temperatura ambiente. Sin embargo, las diferencias entre unas y otros son, desde el punto de vista químico, muy escasas, ya que se componen principalmente de ésteres de glicerol y ácidos grasos, siendo estos los que marcan las diferencias.

#### **1.3.1.2. Nomenclatura**

Los ácidos grasos se denominan de dos formas: una sistemática (propuesta por la IUPAC) y otra tradicional. En la primera se considera al átomo de carbono carboxílico como  $C_1$  o carbono inicial, nombrándose a partir de éste, y en orden creciente, los carbonos siguientes como  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ , etc., denominándose al ácido graso según su número de carbonos como si se tratara de un hidrocarburo (prefijo indicativo del número de carbonos + raíz correspondiente al tipo de hidrocarburo) seguido del sufijo "ico". P. e., el ácido graso saturado de 14 átomos de carbono, llamado vulgarmente mirístico, recibe el nombre sistemático de ácido tetradecanoico.

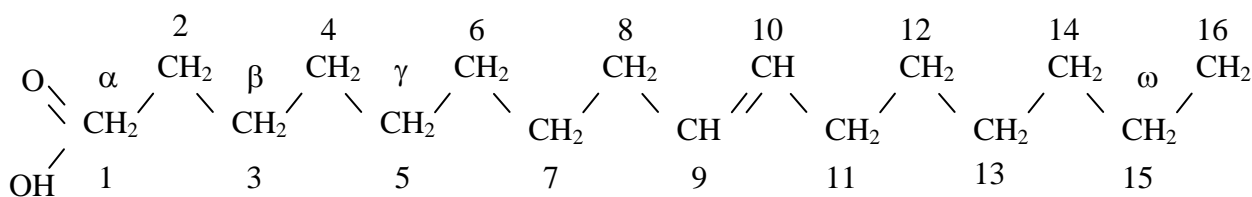
En los ácidos grasos insaturados, que presentan dobles enlaces (insaturaciones), se especifica la posición de estos con un número situado delante del nombre del ácido graso y separado del mismo por

un guión. En el caso de que existiera más de un doble enlace, figuran todos con los correspondientes números separados por comas.

En la nomenclatura tradicional los distintos átomos de carbono que constituyen la cadena hidrocarbonada se designan con letras griegas, siendo identificado el carbono adyacente al carboxílico por la letra  $\alpha$  y los restantes sucesivamente por  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , etc. El carbono del extremo carbonílico, situado al final de la cadena, se nombra con la letra  $\omega$  (Rawn, 1989) y la isomería geométrica consecuente al doble enlace se indica con la palabra "cis" o "trans" inmediatamente antes del número que indica su posición y separada de éste por un guión.

Es frecuente que la denominación de los ácidos grasos se acompañe de una notación que informa de su número de carbonos y del de insaturaciones, separadas ambas cifras por dos puntos (":"). Al lado del segundo número se indica la posición de los dobles enlaces, con cifras separadas por comas, y su isomería geométrica mediante las letras "c" o "t" -según sea "cis" o "trans"- al lado de cada uno de los números. La notación que se utiliza es de tipo delta o química si los dobles enlaces se cuentan a partir del grupo carboxilo. Sin embargo, si se enumeran empezando por el grupo metilo terminal, la notación será de tipo omega ( $\omega$ ). Actualmente, la letra " $\omega$ " ha sido sustituida por una "n" (Fetterman Jr. y Zdanowicz, 2009). Como ejemplo, ver la figura I.1.

**Figura I.1. Estructura bidimensional y nomenclatura de un ácido graso en particular**



Ácido cis-9-hexadecanoico o palmitoleico  
Notación delta: C16:1(9c)  
Notación omega: C16:1n-7

### **1.3.1.3. Clasificación**

Los ácidos grasos se han dividido en grupos y subgrupos dependiendo de ciertas características de su estructura o de determinadas propiedades físicas y/o químicas. Algunos de los sistemas de clasificación más utilizados hacen referencia a:

- La existencia de dobles enlaces: permiten distinguir ácidos grasos saturados (SFAs), monoinsaturados (MUFAs) y poliinsaturados (PUFAs), según carezcan de dobles enlaces, tengan uno o más de uno, respectivamente.
- El número par o impar de carbonos que constituyen la cadena hidrocarbonada.
- La disposición cíclica o alifática de la cadena.
- La longitud de la cadena hidrocarbonada: establece diferencias entre ácidos grasos de cadena corta, media y larga. Sin embargo, los límites de cada grupo varían según la fuente consultada pues no están completamente definidos.
- La forma de cristalizar: en los ácidos grasos saturados se observan seis formas polimórficas designadas con las letras A, B, C, A', B' y C'.
- La volatilidad a temperatura ambiente: esta propiedad divide a los ácidos grasos en volátiles (acético, propiónico y butírico) y no volátiles (el resto).

### **1.3.2. BIOSÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS GRASOS**

La síntesis de los ácidos grasos difiere, tanto en su localización como en su ruta metabólica, según sea la longitud de la cadena hidrocarbonada.

#### **1.3.2.1. Biosíntesis de los ácidos grasos de cadena corta**

Los ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico y butírico) se sintetizan en los animales monogástricos mediante el metabolismo fermentativo de la microbiota intestinal del colon (Vulevic y col.,

2004). Ésta utiliza como sustratos fundamentales fibra dietética y almidón aunque, en menor medida, también puede emplear proteínas (Mortensen y Clausen, 1996). Dichos ácidos grasos se producen en una proporción de 60:25:15 respectivamente, no existiendo casi diferencias debidas al alimento consumido.

En el intestino, estos ácidos grasos son absorbidos por los enterocitos que los utilizan como fuente energética o los secretan a la circulación portal que los conducirá al hígado. Además de la función energética, los ácidos grasos de cadena corta desempeñan otros papeles, como son: intervenir en la diferenciación celular; prevenir el cáncer de colon; disminuir la concentración de lípidos plasmáticos totales; o, incluso, reducir el colesterol sérico -como sucede con el ácido propiónico- lo cual podría tener importantes repercusiones en el control de la aterosclerosis (Kim y col., 2003).

#### **1.3.2.2. Biosíntesis de los ácidos grasos de cadena media y larga**

Tiene lugar en el citoplasma celular, de forma independiente de los procesos degradativos (oxidación) que se producen en la matriz mitocondrial. Las enzimas que actúan en la síntesis y en la oxidación son distintas pero no así algunos de sus productos, los cuales son comunes a ambos tipos de reacciones aunque no intercambiables. En la biosíntesis de estos ácidos grasos se diferencian dos acontecimientos: primeramente, la síntesis *de novo* y a continuación, diversas modificaciones de la cadena de los productos resultantes (D'Arrigo, 2003).

##### **1.3.2.2.a. Síntesis *de novo***

A partir del acetil-CoA se produce malonil-CoA por acción de la enzima acetil-CoA carboxilasa, que es la limitante del proceso biosintético. Dicha proteína actúa a través de una reacción de dos etapas (Wakil y col., 1983) y presenta una regulación compleja en la que intervienen numerosos metabolitos y hormonas.

El malonil-CoA es sustrato de la enzima ácido graso sintetasa, constituida por dos subunidades de gran complejidad. El complejo multienzimático ácido graso sintetasa añade sucesivas unidades

moleculares compuestas por dos restos acilos, hasta llegar a 16 átomos de carbono, obteniéndose así el ácido palmítico (C16:0), que se libera del complejo mediante una tioesterasa específica. La existencia en los diferentes organismos u órganos de otras tioesterasas, o los fenómenos de transacilación, explican la presencia de ácidos grasos de cadena más corta que el palmítico en diferentes tejidos, secreciones y fluidos corporales.

La utilización de propionil-CoA o de una molécula ramificada (p. e. el cetoácido procedente de la transaminación de isoleucina) como molécula inicial permite la síntesis, respectiva, de ácidos grasos de cadena impar (por adición de grupos acetilo como antes se ha expuesto) o ramificada. En el caso anterior, con la adición de acetilos se originarían ácidos grasos *anteiso*.

#### **1.3.2.2.b. Elongación y desaturación**

Las células, además del ácido graso palmítico y otros de cadena más corta, requieren ácidos grasos con un mayor número de carbonos e incluso insaturados. Esto implica la participación del palmítico en diversas reacciones de elongación y desaturación para obtener aquellos ácidos grasos requeridos por las células (ver figura I.2.). Claros ejemplos de dichas necesidades son los lípidos polares de las membranas celulares, cuyos ácidos grasos contienen 18 o más átomos de carbono y un alto grado de insaturación. En animales acuáticos (peces, moluscos, crustáceos y mamíferos marinos) existen ácidos grasos de hasta 24 carbonos (Ackman, 1980). Igualmente, un tercio de los ácidos grasos del tejido nervioso postnatal presentan largas cadenas hidrocarbonadas y abundantes dobles enlaces (Gurr y col., 2002a). En cuanto a longitud de la cadena, el caso más extremo quizás sea el de las ceras vegetales, cuyos ácidos grasos frecuentemente alcanzan entre 24 y 28 átomos de carbono (Gurr y col., 2002b).

##### **A. Elongación**

Consiste en el alargamiento de la cadena del ácido graso y tiene lugar en el retículo endoplásmico liso o en las mitocondrias. En estos últimos orgánulos acontece la elongación de ácidos grasos de cadena corta por una vía inversa a la de la  $\beta$ -oxidación. Ésta requiere NADPH



en vez de  $\text{FADH}_2$ , y permite la adición de unidades moleculares de dos átomos de carbono al extremo carboxilo terminal del ácido graso, "activado" como acetil-CoA. En cambio, en el retículo endoplásmico liso la elongación genera ácidos grasos de cadena más larga por adición de dos carbonos de una molécula de malonil-CoA al extremo carboxilo terminal del ácido graso, "activado" como palmitoil-CoA. Al igual que en el caso anterior es preciso que exista NADPH como coenzima reductor.

Las enzimas responsables del proceso de elongación reciben el nombre de ácido graso elongasas o, simplemente, elongasas. Su actuación se basa en añadir sucesivos carbonos –en grupos de dos- a los ácidos grasos, tanto si proceden de la síntesis *de novo* como si han sido incorporados con la dieta y ya sean saturados o insaturados. El mecanismo de acción de las elongasas es similar al de la ácido graso sintetasa siendo su principal diferencia la capacidad de las elongasas para utilizar el acetil-CoA en vez del malonil-CoA.

En el organismo, una de las funciones más importantes de la elongación es convertir los ácidos grasos esenciales en PUFAs de cadena larga. El punto de partida es el linoleil-CoA ( $\text{C18:2-CoA}$ ) o linolenil-CoA ( $\text{C18:3-CoA}$ ) y progresa con arreglo a un modelo secuencial alternativo de elongación y desaturación.

## **B. Desaturación**

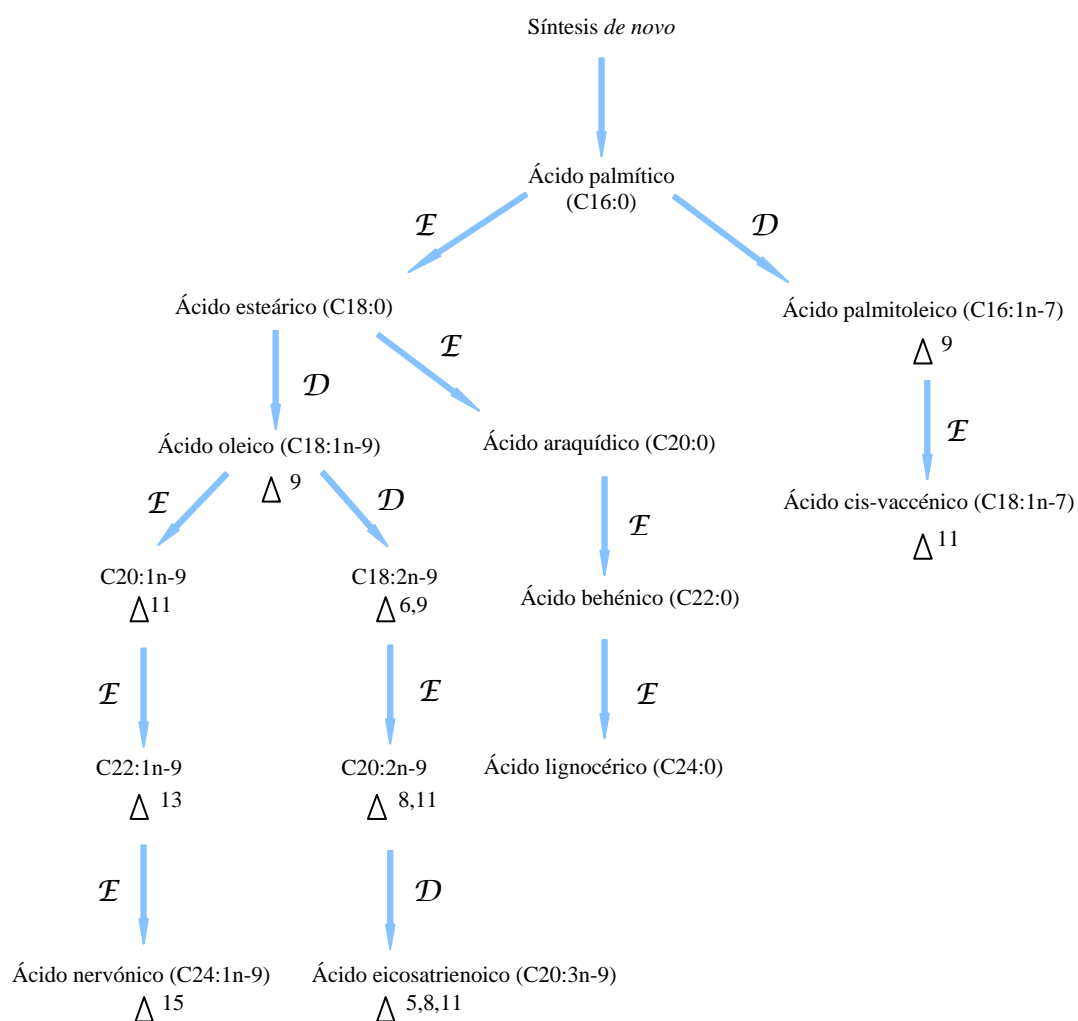
La desaturación tiene lugar también en el retículo endoplásmico liso. El sistema más ampliamente extendido en la naturaleza se basa en una reacción de oxidación catalizada por desaturasas (acil-CoA desaturasas), que permite introducir dobles enlaces en la cadena del ácido graso. Dicho sistema recibe el nombre de "oxidasa de función mixta", puesto que en él se produce la oxidación simultánea de dos sustratos distintos.

La oxidasa de función mixta es un complejo enzimático que suele localizarse en membranas y está constituido por tres matrices proteicas: una flavoproteína (reductasa NADH-citocromo  $b_5$ ), una proteína que contiene el grupo hemo (citocromo  $b_5$ ) y la enzima desaturasa propiamente dicha, cuyo centro activo está dirigido al citosol. En el proceso de desaturación se oxidan al mismo tiempo

NADPH y el ácido graso correspondiente (como acil-CoA), mediante una molécula de oxígeno. El producto final es un ácido graso al cual se ha incorporado una insaturación y dos moléculas de agua.

Los fenómenos de elongación y desaturación permiten obtener una gran variedad de ácidos grasos diferentes a partir de unos pocos, lo cual es indispensable para numerosas funciones vitales. Desde hace tiempo se sabe que la desaturación es distinta según el tejido considerado, la edad, el sexo, etc. (Brenner, 1971; Actis-Dato y col., 1973 y Burdge, 2004), aunque la mayor variabilidad depende del tipo de organismo. En los animales es un proceso más limitado que en vegetales y en microorganismos, ya que no poseen tantos tipos de desaturasas. Esta situación conlleva que los animales (salvo ciertos invertebrados) no puedan sintetizar algunos de los ácidos grasos necesarios para sus procesos vitales: son los denominados ácidos grasos esenciales que, por desaturación y elongación, permiten obtener otros de cadena hidrocarbonada más larga y/o con un mayor número de insaturaciones. En todos los vertebrados y casi todos los invertebrados se requiere que su alimentación incluya como ácidos grasos esenciales el linoleico (LA) (n-6) y el  $\alpha$ -linolénico (ALA) (n-3), pues les resultan esenciales por sí mismos y/o sirven como sustrato para sintetizar los restantes ácidos grasos de las respectivas familias n-3 y n-6. No obstante, dichos productos también pueden incorporarse directamente con la dieta (ver figuras I.3. e I.4.).

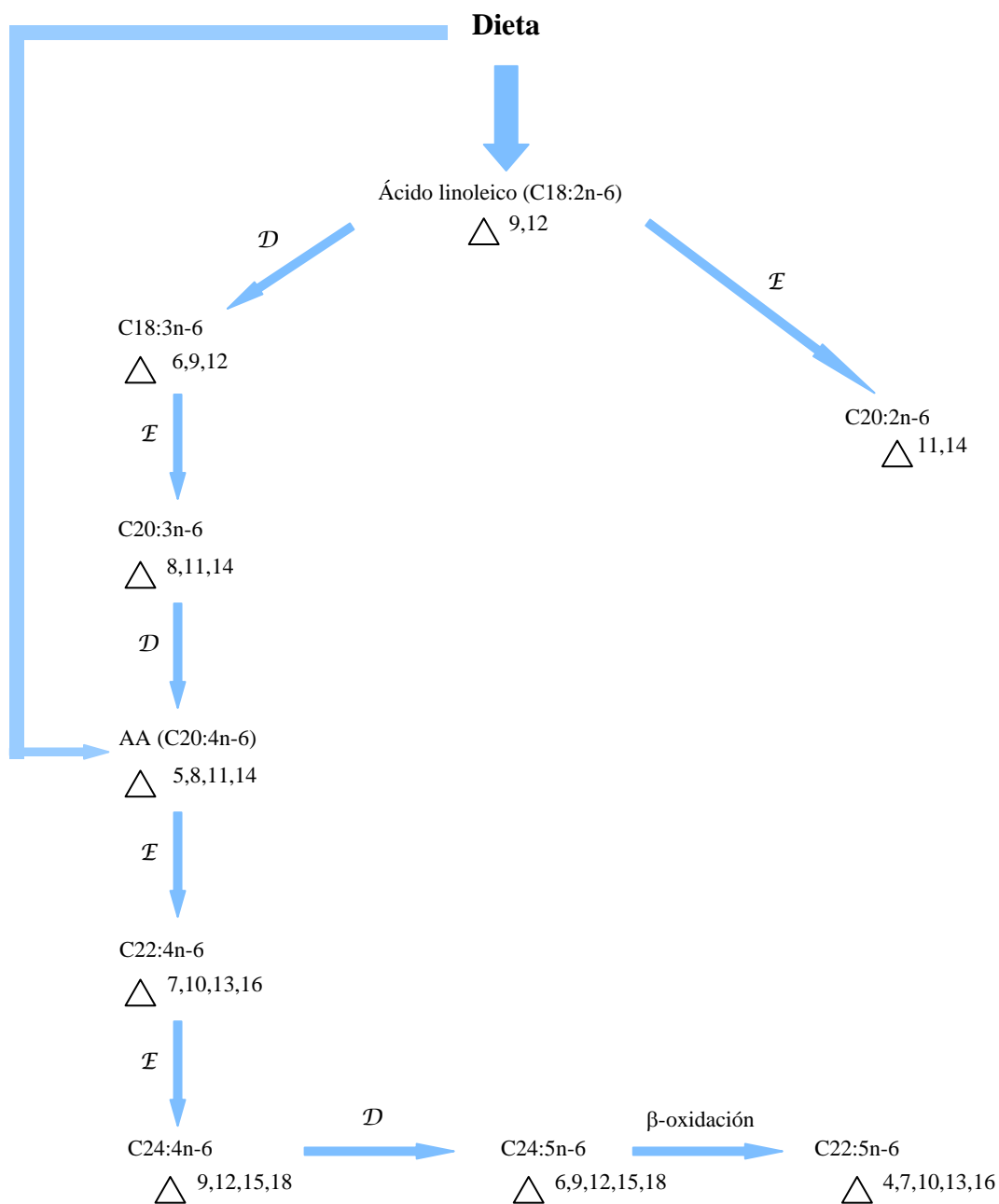
**Figura I.2. Biosíntesis de ácidos grasos en animales, por elongación y desaturación sin la participación de los ácidos grasos esenciales.** Adaptada de Calder (1997) y Muriana (2004)



$\mathcal{E}$  = elongación (adición de 2 acetilos)

$\mathcal{D}$  = desaturación (formación de un doble enlace)

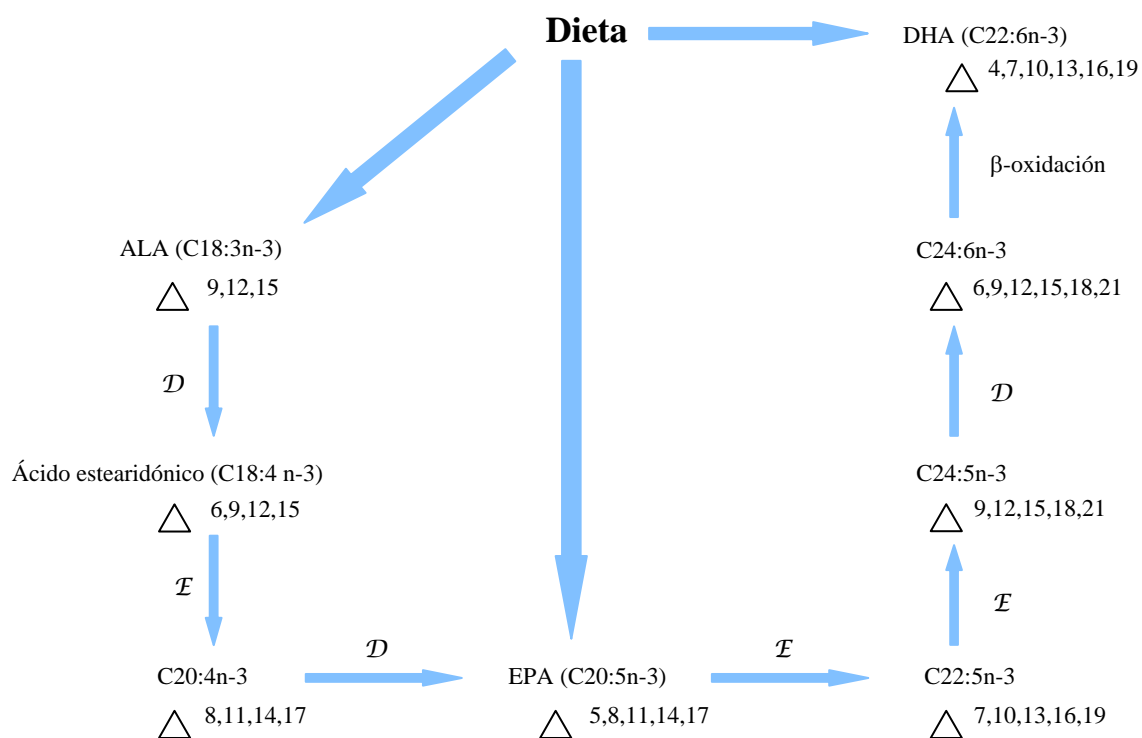
**Figura I.3. Biosíntesis de los ácidos grasos de la familia n-6, por mecanismos de elongación y desaturación, a partir del LA suministrado en la dieta a los animales vertebrados. Los felinos no están incluidos en dicho proceso.** Adaptada de Calder (1997) y Muriana (2004).



$E$  = elongación (adición de 2 acetilos)

$D$  = desaturación (formación de un doble enlace)

**Figura I.4. Biosíntesis de los ácidos grasos de la familia n-3, por mecanismos de elongación y desaturación, a partir del ALA suministrado en la dieta a los animales vertebrados. Los felinos no están incluidos en dicho proceso. Adaptada de Calder (1997) y Muriana (2004).**



E = elongación (adición de 2 acetilos)

D = desaturación (formación de un doble enlace)

### **1.3.3. OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS**

La oxidación de los ácidos grasos ( $\beta$ -oxidación) permite obtener energía a partir de los mismos, que será necesaria para las distintas funciones biológicas del organismo. El papel de los lípidos como fuente energética para el ser humano es muy destacable pues, junto con los carbohidratos, constituyen la principal fuente calórica a la que tiene acceso. Además, existe una mayor prevalencia en la utilización lipídica por parte de ciertos tejidos, siendo un caso extremo el músculo cardíaco (Lewin y Coleman, 2003).

El proceso de oxidación implica a numerosas enzimas, todas ellas se sintetizan en los polisomas del citosol celular (Ozasa y col., 1984).

Los lípidos más utilizados para obtención de energía son los triglicéridos. Aproximadamente el 95% de la energía disponible en los mismos reside en sus tres ácidos grasos, mientras que el 5% restante se encuentra en la molécula de glicerol.

## 1.4. FUNCIONES BIOLÓGICAS DE LOS LÍPIDOS

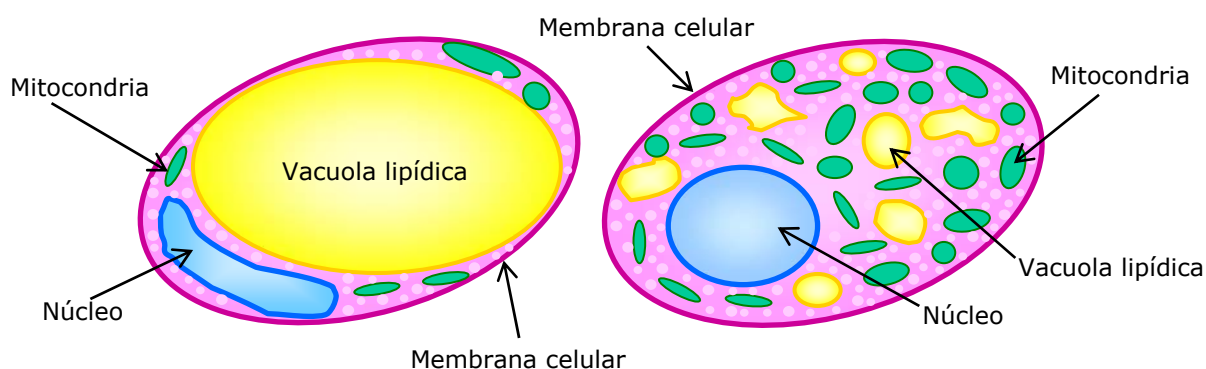
Los lípidos desempeñan numerosas actividades -en ocasiones indispensables- para el desarrollo de procesos biológicos esenciales.

Pueden destacarse las siguientes funciones principales (Lehninger y col., 2001):

### 1.4.1. ALMACENAMIENTO ENERGÉTICO

Desempeñada principalmente por los triglicéridos, los cuales están constituidos por tres ácidos grasos esterificados a una molécula de glicerol. Presentan la ventaja de aportar más del doble de energía que otras fuentes como los glúcidos y las proteínas. Los adipocitos (figura I.5.) y los hepatocitos son células altamente especializadas en acumular triglicéridos en los animales, mientras que otras células los almacenan en cantidades más modestas.

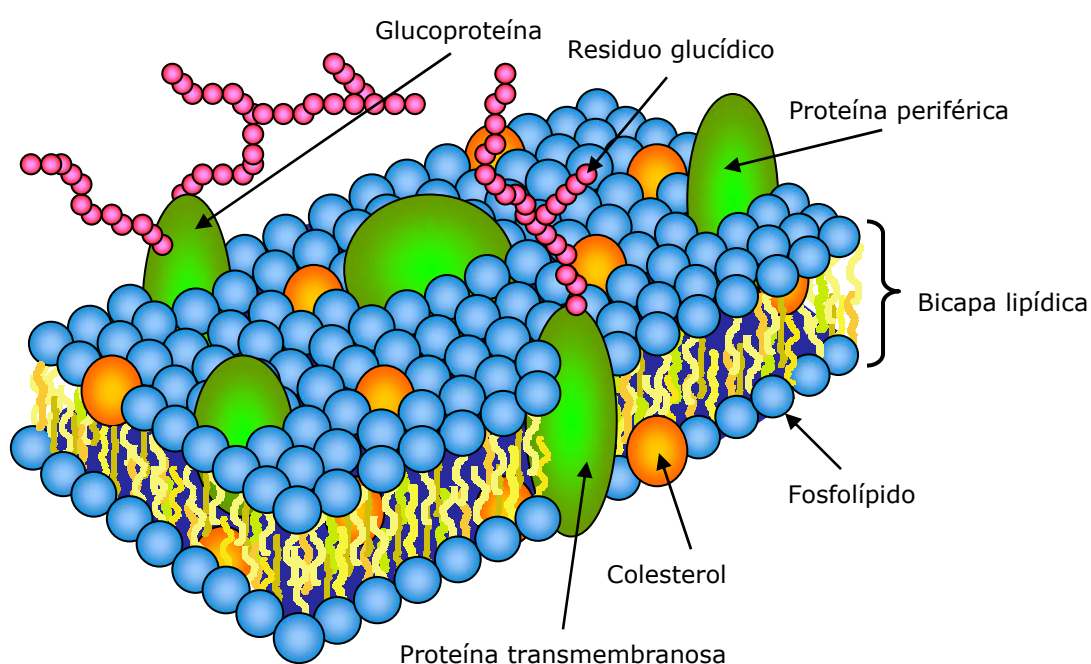
**Figura I.5. Adipocitos, a la izquierda uno del tejido adiposo blanco y a la derecha uno del tejido adiposo marrón.**



### 1.4.2. FUNCIÓN ESTRUCTURAL DE LA MEMBRANA CELULAR

Las células presentan una membrana lipoproteica que las aísla selectivamente del exterior al impedir el paso de moléculas polares e iones (ver figura I.6.). Los lípidos de esta barrera son anfipáticos, con lo que la orientación de sus regiones hidrofóbicas e hidrofílicas dirige su empaquetamiento hacia la formación de una bicapa. Se trata de una estructura dinámica denominada "mosaico fluido", en la cual se distinguen tres tipos de lípidos: fosfolípidos, esfingolípidos (esfingomielinas, glucoesfingolípidos y gangliósidos) y esteroides (siendo el colesterol el propio de los animales). Los esfingolípidos son importantes zonas de reconocimiento antigénico y los esteroides, contribuyen a estabilizar la membrana celular además de intervenir en otras funciones biológicas.

**Figura I.6. Membrana celular de origen animal (estructura de mosaico fluido).**





### **1.4.3. AISLAMIENTO DEL AGUA**

Llevado a cabo por ceras biológicas que impermeabilizan los distintos tejidos vegetales.

En numerosos animales dicha función la realizan triacilglicéridos, ceras y otros lípidos, procedentes todos ellos de las glándulas apocrinas. Suelen actuar de modo complementario con otras sustancias como la queratina.

### **1.4.4. ACTIVIDAD HORMONAL**

Las hormonas esteroides son las producidas en la corteza suprarrenal y las sexuales masculinas y femeninas. Todas ellas tienen como precursores inmediatos los ésteres de colesterol de las lipoproteínas sanguíneas y desempeñan acciones muy diversas en los animales.

### **1.4.5. MEDIACIÓN QUÍMICA**

Se realiza a través de los eicosanoides (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos) derivados del ácido araquidónico (AA) y del eicosapentanoico (EPA). Presentan funciones de gran trascendencia biológica, no siempre bien conocidas, que incluyen acciones inmunológicas, contribución al mantenimiento de la homeostasis, contracción del músculo uterino, regulación de la síntesis de AMP cíclico, expresión de genes y diferenciación celular, fluidez y estabilidad de membranas, efecto protector frente a ciertos tumores, etc.

### **1.4.6. TRANSPORTE DE ELECTRONES**

Llevado a cabo por quinonas lipídicas (ubiquinona y plastoquinona), en las mitocondrias y en los cloroplastos, para producir ATP.

#### **1.4.7. SÍNTESIS DE GLICOPROTEÍNAS**

Corre a cargo de un tipo especial de isoprenoides, los dolicoles, que permiten la transferencia de glúcidos a través de las membranas celulares para su posterior unión a la región proteica.

#### **1.4.8. TERMORREGULACIÓN**

A partir del denominado tejido adiposo marrón o grasa parda, si bien ciertos tipos de tejido adiposo intermedios entre el blanco y el marrón puros también pueden ejercer dicha función en menor medida. La grasa parda presenta una abundancia característica en neonatos y en animales que necesitan hibernar.

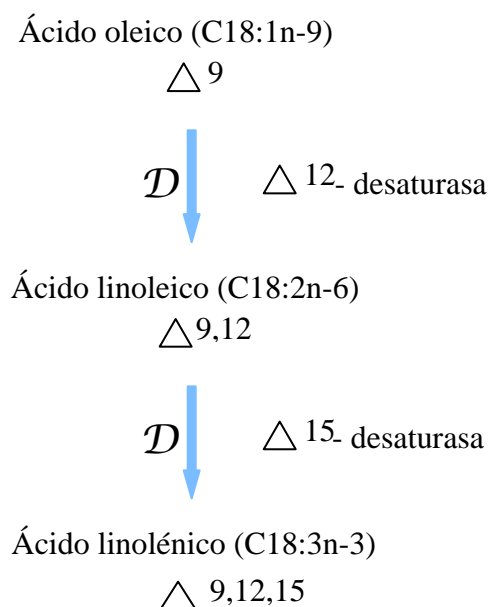
## **1.5. IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS EN LA NUTRICIÓN HUMANA**

### **1.5.1. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES Y NO ESENCIALES**

Como se expuso anteriormente (ver apartado 1.3.2.2.b.), todos los animales vertebrados y la mayoría de los invertebrados no pueden sintetizar los ácidos grasos de las familias n-6 y n-3, a menos que dispongan de sus precursores en la dieta. Es decir, del LA y del ALA, respectivamente. Es por ello que estos ácidos grasos se consideran esenciales para el metabolismo celular, la actividad física y el crecimiento (Uauy y Olivares, 2002). Cabe destacar que existen otros ácidos grasos -el AA, el EPA y el DHA- que también resultan esenciales para algunos mamíferos, como es el caso de los felinos, pues no pueden sintetizarlos a partir de los precursores mencionados (Simopoulos, 1991).

Además, es importante reseñar la existencia de seres vivos - como los vegetales, algunos invertebrados y numerosos microorganismos- capaces de sintetizar los ácidos grasos LA y ALA a partir del oleico obtenido en la síntesis *de novo*. La posibilidad de llevar a cabo dichas conversiones viene determinada por la presencia de ciertas desaturasas que añaden dobles enlaces en las posiciones 12 y 15 de la cadena hidrocarbonada (ver figura I.7.). Los seres vivos que poseen estas enzimas suelen estar en la base de la cadena alimentaria de muchos animales que al ingerirlos, directa o indirectamente, incorporan aquellos ácidos grasos que les resultan esenciales. La capacidad de biosintetizar LA y ALA es consecuencia de la adaptación a bajas temperaturas. En estas condiciones las insaturaciones aportan a las membranas biológicas propiedades fluidificantes que, en el caso particular de los vegetales, son indispensables para que sus cloroplastos ejerzan la fotosíntesis (Daligault y col., 2003).

**Figura I.7. Biosíntesis de los ácidos grasos esenciales LA y ALA, a partir del ácido oleico.** Muriana (2004).



$\mathcal{D}$  = desaturación (formación de un doble enlace)

Un déficit severo de ácidos grasos esenciales en la dieta conduce a alteraciones fisiológicas incompatibles con la vida, como crecimiento anómalo; lesiones cutáneas; falta de pigmentación y aumento de permeabilidad cutánea; disminución del tono muscular; degeneración renal, pulmonar y hepática; mayor susceptibilidad a las infecciones; deficiencias neurológicas y psicomotrices, etc. (Uauy y col., 1989; Uauy y Hoffmen, 1991; Smit y col., 2004). No obstante, la posibilidad de que se dé una situación tan severa sin que exista malnutrición generalizada es poco frecuente en humanos, ya que con cualquier dieta ordinaria se suelen ingerir cantidades suficientes de estos ácidos grasos.

### **1.5.2. IMPORTANCIA DE LA INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES EN LA DIETA, CON ESPECIAL REFERENCIA A LOS DE LA FAMILIA n-3**

El creciente interés por los ácidos LA y ALA no reside únicamente en su cualidad de esenciales, sino en sus diversas aportaciones a la salud. El interés por la inclusión de estos ácidos grasos en la dieta surgió a raíz de una serie de estudios pioneros efectuados en la población esquimal *inuit* durante las décadas de los 60 y 70. Destacan las investigaciones de Sagild y col. (1966), Bang y Dyerberg (1972) y Bang y col. (1976), que mostraron una menor incidencia de patologías cardiovasculares en este pueblo. Dichos hallazgos estaban relacionados epidemiológicamente con el tipo de grasa ingerida, rica en ácidos grasos de la familia n-3. Más adelante, se descubrieron relaciones similares en otras poblaciones de diversas regiones del mundo (He, 2009).

Algunos de los aspectos más relevantes en cuanto al consumo de ácidos grasos son los relativos a la incidencia de ciertas patologías cardiovasculares y a la producción de eicosanoides, los cuales se estudiarán a continuación con detenimiento:

#### **1.5.2.1. Importancia en la incidencia de determinadas patologías cardiovasculares**

Ciertos autores (Allayee y col., 2009) apuntan que las enfermedades cardiovasculares surgen como resultado de una predisposición genética en un contexto medioambiental promotor de las mismas.

En lo concerniente a los niveles sanguíneos de colesterol, tanto su contenido total en sangre como su transporte en forma de HDL o LDL, están íntimamente relacionados con la aparición de procesos de aterosclerosis. La determinación de estos niveles constituye uno de los parámetros predictivos más utilizados actualmente. No obstante, debe considerarse la posible presencia de variaciones individuales significativas en cuanto a la predicción de aterosclerosis en sujetos con perfiles lipídicos similares, lo que se debe a distintos factores,

entre los que destacan posibles anomalías en determinadas lipasas lipoproteicas (Tulenko y Summer, 2002), hábitos poco saludables (tabaco), diabetes, alteraciones inmunológicas debidas a infecciones o a procesos autoinmunes (Libby, 2002), hipertensión, elevados niveles de lípidos séricos, (Allayee y col., 2009) etc. Así pues, determinadas condiciones individuales conllevan que los efectos de los ácidos grasos procedentes de la dieta no sean iguales en todos los sujetos, si bien puede apreciarse un efecto global en la población.

Por otra parte, no todos los ácidos grasos actúan del mismo modo (Santos-Silva y col., 2002). P. e., dentro de los saturados, el mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0) elevan los niveles séricos de colesterol total y de LDL-colesterol. Sin embargo, el esteárico (C18:0), el butírico (C4:0), el caproico (C6:0), el caprílico (C8:0) o el cáprico (C10:0) presentan un efecto neutro, pues no aumentan el colesterol sérico total ni el LDL-colesterol pero tampoco se han descrito efectos positivos para la salud. Los ácidos grasos *trans* aumentan los niveles de colesterol total y el LDL-colesterol, disminuyendo en cambio el HDL-colesterol. Además, los ácidos grasos *trans* elevan el riesgo de padecer síndrome metabólico, diabetes *mellitus* y enfermedades coronarias (Micha y Mozzafarian, 2009). Sin embargo, es muy posible que tanto unos como otros efectos deletéreos se limiten sólo a los ácidos grasos *trans* de origen industrial y no a los de procedencia natural (Attia-Skhiri y col., 2009).

En el caso de los PUFAs n-3, puede que el ALA y sus derivados -el EPA y el DHA- reduzcan el colesterol sanguíneo total y el LDL-colesterol, mientras que aumentan el HDL-colesterol en escasa cuantía (Zuliani y col., 2009). Sin embargo, los datos bibliográficos referentes a los efectos de los ácidos grasos n-3 sobre las lipoproteínas y el colesterol sanguíneo total resultan controvertidos:

- Considerando el ALA, numerosos autores han observado una disminución clara del LDL-colesterol (Bloedon y col., 2008; Vijaimohan y col., 2006; Goyens y Mensink, 2005; Zhao y col., 2004), acompañada en ciertos casos por una reducción del colesterol sanguíneo total (Bassett y col., 2009). Wilkinson y col. (2005) sólo han observado una disminución del colesterol

sanguíneo total pero no así del LDL-colesterol. Otras investigaciones no han encontrado efecto alguno del ALA en el LDL-colesterol ni en el colesterol sanguíneo total (Egert y col., 2009; Kaul y col., 2008; Wendland y col., 2006). En lo relativo al HDL-colesterol, se ha constatado un aumento en individuos no fumadores (Sioen y col., 2009), aunque lo más frecuente es que se haya observado una cierta reducción (Bloedon y col., 2008; Vijaimohan y col., 2006; Zhao y col., 2004) o un efecto neutro (Kaul y col., 2008; Harper y col., 2006).

- Considerando EPA y DHA juntos, algunas investigaciones han apreciado una reducción significativa del LDL-colesterol (López-Huertas, 2009; Magdeldin y col., 2009). En otras, en cambio, se ha constatado un aumento (Makhoul y col., 2010; Jacobson, 2008) o un efecto neutro (Thusgaard y col., 2009; Egert y col., 2009). En relación al HDL-colesterol, parece ser que el aumento que ocasionan -o bien el menor descenso- es más notable que en el caso del ALA. Existen numerosos artículos que apoyan su incremento (Makhoul y col., 2010; Jacobson, 2008; De Luis y col., 2009; Gunnarsdottir y col., 2008), aunque es posible que el responsable sea sólo el DHA y no el EPA (Egert y col., 2009; Holub, 2009). A pesar de ello, existen estudios que no han apreciado efecto alguno sobre el HDL-colesterol (Thusgaard y col., 2009; Erkkilä y col., 2008; Magdeldin y col., 2009). En cuanto al colesterol sanguíneo total, ciertos autores han detectado un aumento (Makhoul y col., 2010; Lindqvist y col., 2009), mientras que según otros el efecto es neutro (Thusgaard y col., 2009; Egert y col., 2009).

No obstante, la relación entre los ácidos grasos n-3 de la dieta y su influencia en la salud cardiovascular no se restringe sólo al colesterol sanguíneo total y al perfil de las lipoproteínas plasmática (Zuliani y col., 2009). Numerosas investigaciones han puesto de manifiesto otros efectos cardiovasculares beneficiosos de los ácidos grasos n-3 distintos de los relativos a las lipoproteínas o al colesterol. Entre estos destacan:

- Disminución de los triglicéridos plasmáticos. Se trata de un hecho muy documentado en la bibliografía (Zuliani y col.,

2009; Thusgaard y col., 2009; Egert y col., 2009; Jacobson, 2008; Holub, 2009; De Luis y col., 2009; Gunnarsdottir y col., 2008; Varga, 2008; Wilkinson y col., 2005) tanto para el ALA como para el EPA y/o el DHA.

- Reducción de la presión sanguínea por parte de cualquiera de los ácidos grasos n-3. Este efecto ha sido constatado por Erkkilä y col. (2008), Barre (2007), Sioen y col. (2009) y Varga (2008).
- Disminución de la agregación plaquetaria (Barre, 2007; Varga, 2008), causada por los ácidos ALA, EPA y DHA, si bien parece ser que el efecto de los dos últimos es mayor.
- Descenso en la producción de ciertas moléculas relacionadas con la inflamación que pueden intervenir en patologías cardiovasculares. Destacan la proteína C reactiva (producida por el hígado y cuyo nivel se eleva cuando hay inflamación en todo el cuerpo) y el factor de necrosis tumoral alfa (liberado por células del sistema inmune y que está asociado a diversas patologías inflamatorias). Makhoul y col. (2010), Farzaneh-Far y col. (2008) y De Luis (2009) han observado que los ácidos grasos EPA y DHA de la dieta inducían menores niveles de proteína C reactiva. De estos tres grupos de investigación, el último detectó además una reducción en el factor de necrosis tumoral alfa.
- Reducción en el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular por parte del ALA (Zhao y col., 2004) y del EPA (Saito y col., 2008).

A pesar de la abundante bibliografía epidemiológica y experimental acerca de los efectos cardiovasculares de los ácidos graso n-3, a día de hoy se desconoce la mayor parte de los mecanismos íntimos que posibilitan dichos efectos (Wang y col., 2009; Zuliani y col., 2009; Farzaneh-Far y col., 2008).

#### **1.5.2.2. Importancia en la producción de eicosanoides**

Los eicosanoides son productos biológicos muy activos que ejercen una potente acción local de forma transitoria: se liberan en



cantidades extremadamente bajas ( $10^{-9}$ - $10^{-12}$  g/l) y tienen una vida útil muy corta, desde segundos hasta 1-2 minutos, salvo los leucotrienos que pueden permanecer activos durante horas (Muriana, 2004). Las acciones de estas moléculas son diversas y complejas por lo que no siempre están correctamente caracterizadas, si bien resultan esenciales para el mantenimiento del organismo. Entre ellas cabe destacar (Kaufmann y col., 1997; Okuda y col., 2002; O'Leary y col., 2004; Muriana, 2004): modulación del dolor y de ciertas funciones cognitivas; intervención en procesos inmunes (sobre todo en la hipersensibilidad, inflamación, adhesión y quimiotaxis); regulación del ciclo reproductivo; contracción o dilatación de la musculatura lisa; participación en funciones secretoras, circulatorias y digestivas, etc.

Los precursores de los eicosanoides son los PUFAs EPA n-3 y AA n-6, integrados en los fosfolípidos de las membranas celulares (figura I.8.). El AA deriva de la dieta o de su precursor, el LA. El EPA procede también del suministrado en la dieta o bien de otro precursor, el ALA. Las tasas de conversión de este último en EPA y DHA resultan controvertidas: según Stark y col. (2008) en torno al 8-20% del ALA suministrado en la dieta a humanos se transforma en EPA, mientras que el 0,5-9% de dicho ALA se destina a la síntesis de DHA. Por su parte, He (2009) recoge un par de estudios que difieren al respecto: uno de ellos afirma que el 5-10% del ALA de la dieta se transforma en EPA y el 2-5% en DHA. El otro sostiene que un 7% del ALA se convierte en EPA y sólo el 1% en DHA. Las diferencias de conversión en EPA y DHA observadas en las fuentes bibliográficas es posible que se deban a factores como el sexo, el órgano o tejido considerado, la variabilidad individual, etc.

El EPA y el AA se separan de los fosfolípidos merced a la enzima fosfolipasa A<sub>2</sub>. Después, se someten a la acción de las enzimas lipooxigenasas (5-, 12- y 15-lipooxigenasas) y ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2). Existe una competencia de ambos ácidos grasos por la fosfolipasa A<sub>2</sub>, las lipooxigenasas y las ciclooxigenasas (He, 2009), que son las principales responsables de su transformación en eicosanoides mediante reacciones de peroxidación lipídica. Para un mayor conocimiento del tema, se remite al lector a los trabajos de Gil

(2002), Simopoulos (2002a), Mori y Beilin (2004), Stark y col. (2008), Massaro y col. (2008).

Se ha observado que según sea el tipo de ácido graso, así serán los eicosanoides formados. De este modo, los procedentes del AA (eicosanoides de las series 2 y 4) tienen una actividad biológica superior y un tiempo de actuación mayor que los procedentes del EPA (series 3 y 5) (Anholt y col., 2004; Fetterman Jr y Zdanowicz, 2009). El precursor más frecuente de los eicosanoides es el AA por ser más abundante en los fosfolípidos que el EPA, además de que su especificidad de sustrato por las ciclooxigenasas es superior a la de otros ácidos grasos (Muriana, 2004).

La exégesis de las funciones específicas de los eicosanoides derivados de ácidos grasos n-6 y n-3 es excesiva para el objetivo de esta memoria. A grandes rasgos, puede establecerse que los eicosanoides de las series 2 y 4 tienen un potencial biológico de inducción de respuesta (inflamatoria, vasodilatadora, etc.) unas diez veces superior al de los eicosanoides de las series 3 y 5. Esta particularidad supone un beneficio fisiológico indiscutible para el individuo, siempre y cuando no exista un exceso de ácidos grasos n-6 en la dieta, como sucede hoy en día en la mayor parte de los países occidentales. Recientemente, se ha puesto de manifiesto (Massaro y col., 2008) la producción a partir de ácidos grasos n-3 de otras sustancias diferentes de los eicosanoides pero cuya síntesis requiere enzimas comunes a las de estos (actuación consecutiva de la COX-2 acetilada y de la 5-LOX) (ver figura I.9.). Se trata de las resolvinas: partir del EPA se originan las resolvinas de la serie E (E1 y E2) y a partir del DHA las de la serie D (D1, D2, D3 Y D4). Éste último da lugar también a otras moléculas (Anderson y Ma, 2009): las neuroprotectinas D1 (NPD1), con potente efecto antiinflamatorio y antiapoptótico en el sistema nervioso.

Por otra parte, se ha estimado que un individuo medio de los países occidentales ingiere de unos 10-15 (Jonnalagadda y col., 1995) a 30 g/día de PUFA n-6 (Leaf y Weber, 1987), incluyendo 200-1000 mg/día de AA (Phinney y col., 1990) pero la cantidad de ALA no sobrepasa los 2,92 g/día (Raper y col., 1992) y la de EPA y DHA se sitúa en torno a 48 y 72 mg/día, respectivamente. Estos datos

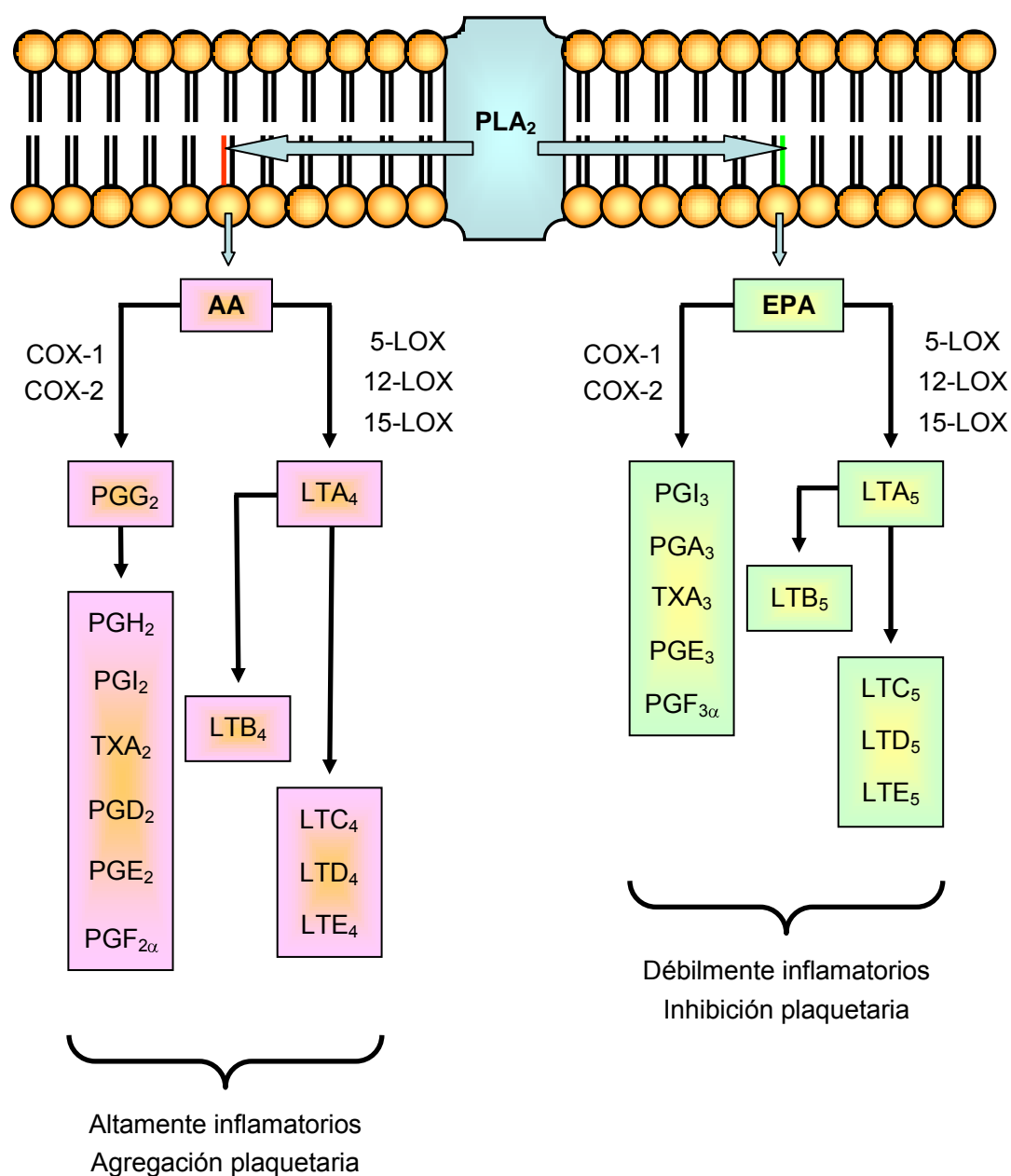
evidencian que se ha producido una disminución absoluta y relativa en la ingesta de PUFAs n-3. En la dieta norteamericana actual, la relación PUFAs n-6/n-3 es de 20-30/1 (Simopoulos, 1994) y puede decirse, por extensión, que es muy similar a la de otros países desarrollados. Estos valores se alejan mucho de la relación 1-2/1, que se estableció en base a las necesidades dietéticas determinadas por la genética humana (Simopoulos, 1994).

En otro orden de cosas, el exceso de SFAs y PUFAs con isomería *trans* ingeridos afecta negativamente la salud de la población. Ambas situaciones son responsables de parte de la incidencia -y/o del empeoramiento- de numerosos estados patológicos de índole inflamatoria, los cuales pueden prevenirse o mejorarse incrementando la ingesta de ácidos grasos n-3 en detrimento de los saturados y *trans*. Cabe destacar entre otros procesos la ya mencionada aterosclerosis (Rinker y col., 2004; Massaro y col., 2010), la diabetes *mellitus* tipo II (Suresh y Das, 2003; Thorsdottir y col., 2004; Isharwal y col., 2009; Rizza y col., 2009; Stirban y col., 2010), el asma (Fetterman Jr y Zdanowicz, 2009; Hisada y col., 2009), la artritis reumatoide (Gruenwald y col., 2004; Das Gupta y col., 2009; Ruggiero y col., 2009; Kaithwas y Majumdar, 2010), el lupus eritematoso (Duffy y col., 2004; Wright y col., 2008), la fibrosis quística (Vizia y col., 2003; Panchaud y col., 2006; Oliveira y col., 2010) y la psoriasis (Simopoulos, 2002b; Mayser y col., 2002). En muchos de ellos se ha dilucidado el mecanismo bioquímico y/o se ha comprobado epidemiológicamente el efecto positivo. En cambio, en otros las causas bioquímicas no se conocen con precisión, o bien no existe una evidencia epidemiológica consistente acerca de los efectos terapéuticos.

El hecho de que los PUFAs n-3 y n-6 compitan entre sí, no sólo por las ciclo- y lipooxigenasas sino también por las elongasas y desaturasas, ha llevado a numerosos investigadores a tomar en consideración la importancia cuantitativa del consumo de n-3 tanto en términos absolutos como en términos relativos, teniendo en cuenta la relación de ácidos grasos n-6/n-3 en la dieta. Así pues, estudios efectuados en voluntarios humanos alimentados con un nivel fijo de PUFAs n-3 junto con altas y bajas ingestas de PUFAs n-6,

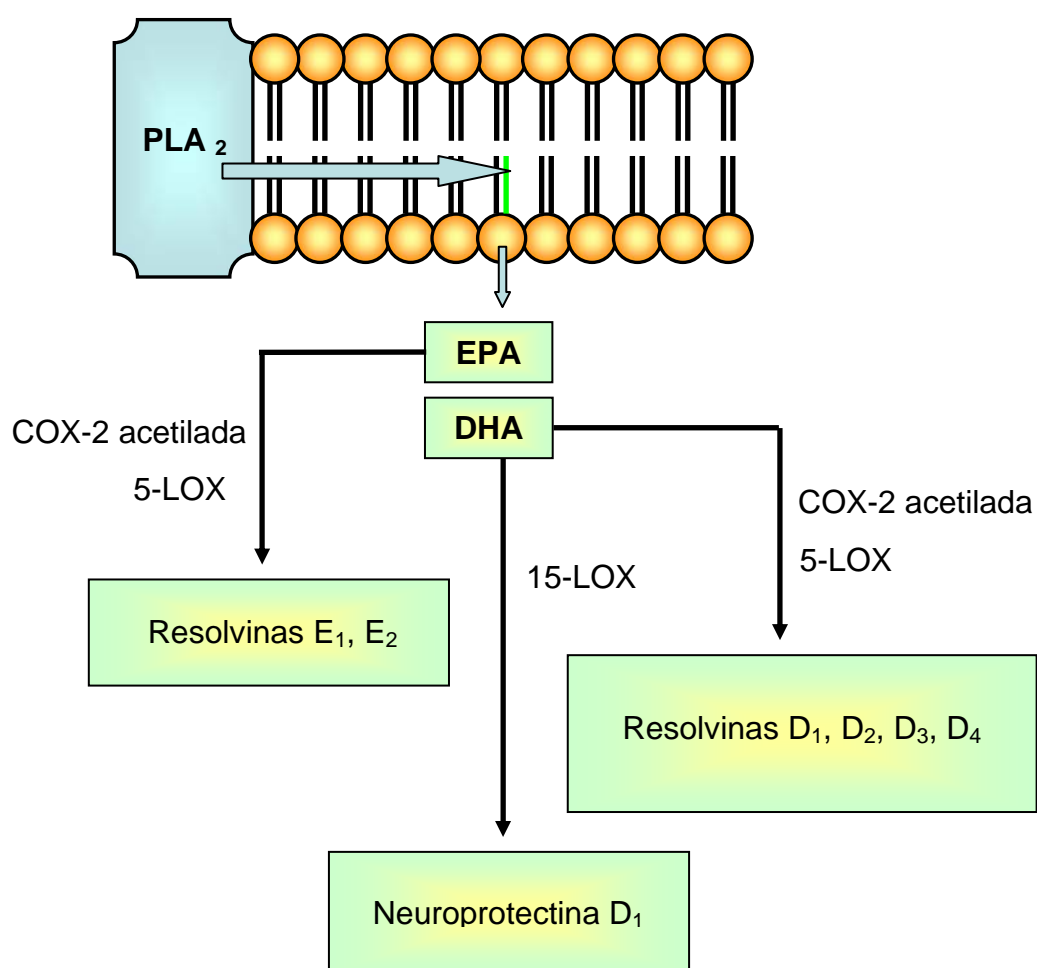
evidenciaron que la tasa de EPA del suero, plaquetas y fosfolípidos de neutrófilos era significativamente mayor en aquellos sujetos alimentados con niveles bajos de LA (Grønn y col., 1991; Cleland y col., 1992). Sin embargo, la EFSA (2010) considera que más importante que una apropiada relación n-6/n-3 en la dieta lo es un adecuado consumo, en términos absolutos, de ácidos grasos n-3 (véase apartado 1.5.3.).

**Figura I.8. Conocimientos clásicos sobre la producción de moléculas antiinflamatorias -en este caso eicosanoides- a partir de ácidos grasos n-3 y n-6.**  
Adaptada de Massaro y col. (2008) y Fetterman Jr y Zdanowicz (2009).



COX (ciclooxigenasa), LOX (lipooxigenasa), LT (leucotrieno) PG (prostaglandina), TX (tromboxano), PLA<sub>2</sub> (fosfolipasa A<sub>2</sub>).

**Figura I.9. Conocimientos recientes sobre la producción de moléculas antiinflamatorias distintas de los eicosanoides a partir de ácidos grasos n-3.** Adaptada de Massaro y col. (2008).



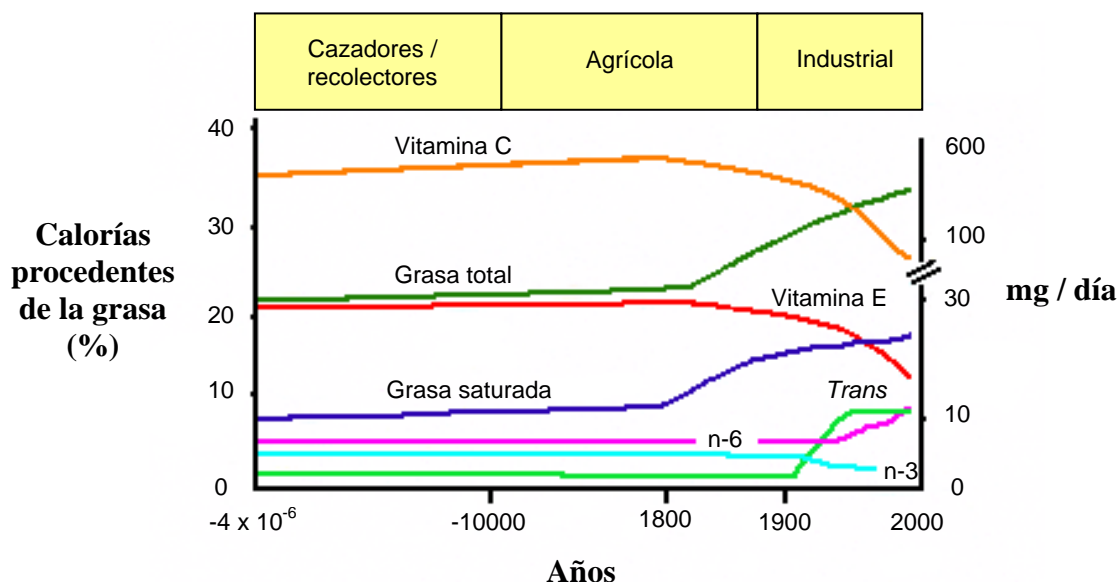
COX (ciclooxigenasa), LOX (lipooxigenasa), PLA<sub>2</sub> (fosfolipasa A<sub>2</sub>),

### 1.5.3. PROBLEMÁTICA ACTUAL EN EL CONSUMO DE ÁCIDOS GRASOS

En un principio, únicamente se consideró perjudicial para la salud el consumo excesivo de ácidos grasos saturados, recomendándose su sustitución parcial en la dieta por ácidos grasos insaturados. Con posterioridad, se observó que no todos los ácidos grasos insaturados influían de igual modo en la salud. Se constató también que el actual consumo excesivo de ácidos grasos n-6 en detrimento de los n-3 (debido en parte a las tecnologías alimentaria y culinaria, a la comida rápida y a los sistemas de producción animal intensiva) perjudicaba a la salud y se hicieron estudios que incidían en la importancia del equilibrio entre estas dos familias de PUFAs en la dieta, surgiendo diversas recomendaciones sobre la relación n-6/n-3 ideal: así, la *British Nutrition Foundation* (BNF) recomendó una relación menor de 6 (*British Nutrition Foundation*, 1992), mientras que la FAO se decantó por una que alcanzase unos valores máximos entre 5 y 10 (FAO, 1994). No se conocía entonces la implicación de los ácidos grasos en tantos procesos vitales (p. e. componentes estructurales de las membranas celulares, precursores de moléculas bioactivas, reguladores de actividades enzimáticas, regulación de la expresión de genes, relación con enfermedades coronarias etc.) como los que actualmente se reconocen.

Hacia la mitad de la década de 1980 se llevó a cabo un estudio en el que se comparaba la posible alimentación de nuestros ancestros con la de los humanos actuales y se hizo la estimación hipotética del consumo de grasa y de la ingesta de PUFAs n-6 y n-3 que se muestra en la figura I.10. (Leaf y Weber, 1987) a la que recientemente se ha añadido la ingesta de las vitaminas E y C y la de ácidos grasos *trans* (Simopoulos, 2004). Se dedujo que la dieta de nuestros antepasados era más pobre en energía y más rica en fibra, frutas, hortalizas, carne magra y pescado (Simopoulos, 2000; Simopoulos, 2004). Además, la dieta de nuestros ancestros conllevaba, entre otras cosas, que la relación de PUFAs n-6/n-3 de la dieta estuviera en torno a 1 (Eaton y col., 1996) y que la ingesta absoluta de PUFAs n-3 fuese superior a la actual.

**Figura I.10. Evolución hipotética de la ingestión de grasa total y ácidos grasos n-6, n-3, *trans* y saturados (expresados en %) y de vitaminas E y C (mg / día) (Simopoulos, 2004).**



Dicha situación se mantuvo con variaciones muy ligeras desde el Paleolítico hasta la Revolución Industrial pero en los últimos 150 años, el consumo de grasa total por parte del ser humano ha aumentado de un modo drástico, sobre todo a expensas de las grasas saturadas, de las poliinsaturadas de tipo n-6 y de los isómeros *trans*. Por el contrario, el consumo de PUFAs n-3 ha sufrido un descenso paralelo (Simopoulos, 1991). Se ha producido también una disminución progresiva de las vitaminas E y C ligada al menor consumo de frutas y hortalizas.

Una ingesta típica de PUFAs n-6 y n-3 en los países occidentales se muestra en la tabla I.2. (Simopoulos, 2001), donde se han recogido también las ingestas aceptables de referencia de algunas instituciones. Claramente se observa la descompensación que existe entre la ingesta tan elevada (superior a las recomendadas) de los PUFAs n-6 (LA y AA) frente a la tan exigua (inferior a cualquiera de las recomendaciones) de los PUFAs n-3, lo que provoca una relación muy alta de PUFAs n-6/n-3. En cuanto a las recomendaciones, puede



decirse que los valores fijados por las distintas instituciones para los PUFAs n-3 son bastante similares aunque, quizás, se hayan ido ajustando a la baja hasta tal punto que la EFSA es la que asigna los menores niveles. Llama la atención que las últimas revisiones no ofrecen índices para la relación PUFAs n-6/n-3. Más adelante se explica el razonamiento de SACN/COT al efecto. En relación con los PUFAs n-6, considerando sólo el LA, cabe decir que en las recomendaciones de Reino Unido (SACN/COT, 2004) y de la EFSA (2010) se le adjudica una cantidad mínima de ingesta que es triple y cuádruple, respectivamente de la que la FAO/WHO asignó en 1994 (FAO, 1994). Quizás, se pretenda reconocer que aunque las fuentes de LA son muchas, no por ello no se debe de tener en cuenta una ingesta aceptable mínima, dado su carácter de ácido graso esencial. Por último, no se hacen recomendaciones sobre el AA porque no es esencial y las necesidades del mismo están aseguradas por la desaturación y elongación del LA.

**Tabla I.2. Estimación de la ingesta (g / día) típica individual de ácidos grasos n-6 y n-3 en los países occidentales (Simopoulos, 2001) y la recomendada (g / día) por algunas instituciones (BNF, 1992; FAO, 1994; SACN/COT, 2004; EFSA 2010).**

Ácido graso	BNF 1992	FAO/WHO 1994	SACN/COT 2004	EFSA 2010	Ingesta típica actual
LA (n-6)	-	4,44	12,90	17,00	22,50
ALA (n-3)	2,80	2,22	2,80	1,70	1,20
AA (n-6)	-	-	-	-	0,60
EPA (n-3)	0,56*	0,22	0,45*	0,25*	0,05
DPA (n-3)	-	0,22	-	-	0,05
DHA (n-3)	-	-	-	-	0,08
n-6/n-3	< 6	5-10	SR**	SR**	16,74

\* La recomendación es de EPA+DHA.

\*\* SR: Sin recomendación.

La elevada ingesta de LA (o, quizás sea más correcto, la muy exigua de PUFAs n-3) ha empeorado ciertos aspectos de la salud de la población, sobre todo en los países más desarrollados, trayendo como consecuencia un incremento de enfermedades cardiovasculares y de otras índoles ya mencionadas (véase apartado 1.5.2.).

En 1992, la BNF indicaba (*British Nutrition Foundation*, 1992) que el LA (generalizando, PUFAs n-6) y el ALA (generalizando, PUFAs n-3) deberían suponer al menos el 1% y el 0,2% de la ingesta de energía diaria (es decir, aproximadamente el 2,8 g de PUFAs n-6 y 560 mg de PUFAs n-3 asumiendo una dieta de 2.500 kcal y seguía manteniendo la relación PUFAs n-6/n-3. El informe del SACN/COT (2004) recomienda a la población consumir al menos dos porciones de pescado semanales, de las cuales una debe ser de pescado graso, añadiendo que dos raciones de pescado (magro y graso) a la semana equivalen a aproximadamente 0,45 g de PUFAs n-3 de cadena larga

diarios (3,15 g a la semana). Este valor de 0,45 g es precisamente el que ha fijado el SACN/COT para EPA+DHA.

Respecto a la relación PUFAs n-6/n-3, el SACN/COT no establece valor alguno sino todo lo contrario, lo elude concluyendo que los valores absolutos son más reales, basándose en los siguientes argumentos que el autor de esta memoria hace suyos: hace unos años se había sugerido que la relación PUFAs n-6/n-3 de nuestras dietas podría ser un importante factor de riesgo para ciertas enfermedades, entre ellas las cardiovasculares. Esta hipótesis derivaba de datos ecológicos que apuntaban a que la ingesta de PUFAs n-6 había aumentado y la de n-3 disminuido en los últimos 150 años y que estos cambios habían sido paralelos a un aumento de las enfermedades cardiovasculares en el mundo (Simopoulos, 1999; Kris-Etherton y col., 2009). Como se ha indicado en páginas anteriores, tanto los PUFAs n-6 como los n-3 compiten por las mismas enzimas que están implicadas en la desaturación y elongación de los ácidos grasos esenciales (LA y ALA). Por ello, se pensó que un aumento de los PUFAs n-6 en la dieta podría conducir a un incremento en la producción de metabolitos protrómbicos en vez de antitrómbicos y, con ello, al incremento del riesgo de enfermedades coronarias (Chan y col., 1993; Freese y col., 1994; James y col., 2000). Además, si las ingestas de LA fueran elevadas, existiría una menor posibilidad de que, a partir del ALA, se generaran los ácidos grasos protectores EPA y DHA.

Sin embargo, pocos estudios se llevaron a cabo con el fin de investigar el efecto de la relación entre los PUFAs n-6 y n-3 en el riesgo de presentación de las enfermedades coronarias pero, aun así, la relación PUFAs n-6/n-3 se continuó asociando con el peligro de aparición de dichas enfermedades aunque no se comprobó. Más tarde, aparecieron publicaciones que notificaban hechos fisiológicamente relevantes. Mozaffarian y col., (2005) informó que no había efecto alguno de las ingestas de EPA y DHA en relación con los PUFAs n-6 en lo que respecta al riesgo de enfermedades cardiovasculares. Asimismo, en otro estudio de aquel mismo año (Laaksonen y col., 2005) se indicaba que no había un incremento significativo en la muerte por infarto cuando se ingerían relaciones muy elevadas de

PUFAs n-6/n-3 en comparación con hombres que consumían alimentos con bajas relaciones de PUFAs n-6/n-3. Lo que cada vez está más claro es que tanto los PUFAs n-3 como los n-6 ejercen efectos independientes en la salud del organismo y que las ingestas de PUFAs n-6 comunes se sitúan entre lo que dictaminan las recomendaciones en relación con una dieta saludable. El interés, pues, por la relación PUFAs n-6/n-3 derivaba más bien de las bajas ingestas de PUFAs n-3 que de las elevadas de PUFAs n-6. De hecho, pudiera ocurrir que hablar en términos de "relación" condujera a una reducción de la ingesta de PUFAs n-6, lo cual podría ser innecesario e incluso indeseable. Si la población consumiera alimentos que cubriesen las recomendaciones de ingestas de PUFAs n-6 y de PUFAs n-3, la relación entre ambos sería automáticamente de 5:1, de modo que puede ser más útil hablar en términos de ingestas absolutas que en los de "relación", que es más difícil de interpretar.

Otra de las instituciones que se ha ocupado de las ingestas de los diferentes tipos de lípidos es la EFSA (*European Food Safety Authority*) que emitió una Opinión Científica sobre "Valores de referencia de la dieta para grasas, incluyendo ácidos grasos saturados, ácidos grasos insaturados, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos *trans* y colesterol" (EFSA, 2010). Para adultos normales y sanos, de forma resumida, la EFSA propone:

Una ingesta de grasa del 20% respecto a la energía (20% E) en el nivel bajo y un 35% E en el nivel superior.

La EFSA no fija, en relación con los SFAs, ninguna "ingesta de referencia para la población", "necesidades medias", "ingesta mínima" ni "ingesta adecuada" porque el organismo puede sintetizar los SFAs y, por tanto, no se requiere que sean aportados por la dieta aunque concluye que la ingesta de SFAs debe ser lo más baja posible en el contexto de una dieta nutricionalmente saludable.

No se conoce ningún papel específico de los *cis*-MUFAs sintetizados por el organismo en cuanto a la prevención o la producción de alguna enfermedad relacionada con la dieta y, por tanto, es un material no indispensable de la dieta. No se propone ningún "valor de referencia".

Teniendo en cuenta los diferentes efectos metabólicos de diversos *cis*-PUFAs, la comisión de expertos de la EFSA no formula ningún "valor de referencia" para la ingesta de estos ácidos grasos. Asimismo, no fija ningún valor específico para la relación PUFAs n-6/n-3 porque no existen en humanos datos científicos suficientes sobre parámetros clínicos y bioquímicos que permitan recomendar una "relación" independiente de los niveles absolutos de ingestas.

En relación con los PUFAs n-6 la EFSA indica que el LA no puede sintetizarse en el organismo y se necesita para mantener la integridad metabólica del mismo, participando en diversos fenómenos fisiológicos. Es, por tanto, un ácido graso esencial. Sin embargo, no hay suficientes evidencias científicas que permitan conocer un "requerimiento medio", el "nivel de ingesta más bajo" o una "ingesta de referencia para la población". Como la relación entre la ingesta del LA y el perfil lipídico de la sangre es continuo, ningún nivel de ingesta puede identificarse por debajo del cual aumente el riesgo de sucesos cardiovasculares. A pesar de estas dificultades para saber cuál es la ingesta ajustada, la EFSA propone como "ingesta adecuada" de LA de un 4% E total ingerida, basándose en las ingestas más bajas estimadas sobre varios grupos de población procedentes de diversos países europeos en los cuales no se han presentado síntomas de deficiencias de LA. Sobre el ácido araquidónico se indica que se reconoce su papel en el mantenimiento de la integridad metabólica pero que no es un ácido graso esencial ya que se puede sintetizar a partir del LA. No se propone, pues, ninguna ingesta de referencia. Finalmente, tampoco se propone ningún límite en el nivel superior porque no existen evidencias de que algún PUFA n-6 produzca efectos nocivos en la salud.

Entre los PUFAs n-3, el ALA es un ácido graso esencial. El razonamiento que hace la EFSA es el mismo que para el LA, fijando una "ingesta adecuada" de ALA de un 0,5% E total ingerida, basándose en las mismas consideraciones que para el LA. Tampoco se propone ningún límite en el nivel superior al no existir evidencias de que el ALA produzca efectos nocivos en la salud. El organismo puede sintetizar EPA y DHA a partir del ALA. Se reconocen los efectos beneficiosos de los PUFAs n-3 de cadena larga en los factores de

riesgo (p. e. concentración de triacilgliceroles en el plasma, agregación de plaquetas y presión sanguínea) de enfermedades coronarias. Los estudios sobre el consumo de aceite de pescado indican que cantidades entre 250 y 500 mg de EPA + DHA disminuyen el riesgo de mortalidad por enfermedades coronarias e infarto. Teniendo en cuenta que no hay evidencias que permiten formular un "requerimiento medio", se fijan, para adultos, 250 mg diarios de EPA + DHA como "ingesta adecuada", basándose en consideraciones cardiovasculares.

Respecto a los ácidos grasos conjugados, no existen evidencias suficientes de que algún isómero de los mismos en la dieta desempeñe un papel en la prevención o potenciación de enfermedades relacionadas con la alimentación. No se propone, pues, ningún valor de referencia para estos ácidos.

En otros países, las recomendaciones varían algo pero son muy cercanas a las europeas. Así, de forma resumida, en Estados Unidos y Canadá la ingesta aceptable para los PUFAs n-6 es de 5% E ingerida (17 g/día para un varón adulto) y para los PUFAs n-3 es del 0,6% E ingerida (1,8 g/día para el varón adulto), de los cuales un 10% debe estar en forma de EPA + DHA. Como con la EFSA, no se fijan niveles máximos de ingestas. Asimismo, la FAO/OMS recomienda niveles similares (4 - 10% para los PUFAs n-6 pero no ofrece recomendación absoluta para los PUFAs n-3 y, en vez de ello, indica que la relación PUFAs n-6/n-3 debe ser entre 5 y 10) aunque esta opinión es ya antigua, de 1994.

En esta memoria se han tomado como niveles de referencia los aportados por la EFSA que, aparte de ser los que se recomiendan para todos los países miembros, son los más actualizados ya que la Opinión Científica sobre el tema fue fijada y redactada en 2009 y publicada en 2010. Los valores que se tomarán como base respecto a los PUFAs n-3 son respecto a una ingesta de 3.000 kcal (12.560 kJ):

Ingesta aceptable para el ALA: 0,5% E, equivalente a aproximadamente 1,7 g / día.

Ingesta aceptable para EPA + DHA: 250 mg / día.

Tal vez sea el momento de hacer alguna referencia a la dieta mediterránea. Desde hace unos años se ha ido implantando el concepto de "dieta mediterránea" o "patrón de dieta mediterránea", que propone reducir los desequilibrios dietéticos típicos de las sociedades opulentas. Esta dieta pretende ser una aproximación a la consumida tradicionalmente por los pueblos de la cuenca mediterránea. Sin embargo, no existe una uniformidad total en cuanto a su composición (Bilenko y col., 2005). De este modo se observa que la dieta mediterránea de Grecia tiene un contenido superior de grasa total, la de Italia implica un mayor consumo de pasta y la de España es más rica en pescado. No obstante, existen unos patrones comunes, como un elevado consumo de aceite de oliva (rico en MUFAs), frutas, hortalizas y cereales y uno moderado de vino y carne (Wahrburg y col., 2002). De ello se deduce que, desde un punto de vista lipídico, la dieta mediterránea tiene como base fundamental un mayor consumo de MUFAs en detrimento de los SFAs.

## **1.6. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CUANTÍA Y DISTRIBUCIÓN DE LA GRASA EN ANIMALES DE ABASTO, CON ESPECIAL REFERENCIA AL CERDO**

Los triglicéridos y, en menor medida, los fosfolípidos son los lípidos portadores de ácidos grasos esterificados más abundantes en los mamíferos. Los factores que influyen en su cantidad y/o distribución pueden ser clasificados del siguiente modo:

### **1.6.1. FACTORES ENDÓGENOS**

#### **1.6.1.1. Genética**

**Según la especie animal considerada:** Rhee (1992), elaboró tablas comparativas en las que valoraba la concentración de ácidos grasos totales en relación al magro (gramos de ácidos grasos/100 gramos de magro fresco o cocido). A partir de ellas se puede establecer la siguiente secuencia decreciente: porcino > bovino (adulto) > ovino > pollo (muslo) > bovino (ternera) > pollo (pechuga).

**Dentro del ganado porcino:** existen distintos niveles de engrasamiento determinados genéticamente (Fisher y col., 2003; Ramírez y col., 2007) entre híbridos y/o razas de la misma especie. Cabe destacar que los *loci* responsables del alto engrasamiento están ligados a animales de baja producción cárnica, del tipo del cerdo silvestre europeo (Marklund y col., 1999) del Mangalica (Lugasi y col., 2006), del Wujin (Zhao y col., 2009), del Meishan (Hauser y col., 1997; Gispert y col., 2007) y de otros muchos. Al igual que ocurre con ellos, el cerdo Ibérico es también un animal mucho más adipogénico que los suidos altamente seleccionados para producción cárnica industrial, como Landrace, Large White, Pietrain, híbridos comerciales de elevado rendimiento, etc.

Todavía no se conoce del todo el mecanismo genético que rige el mayor o menor engrasamiento de los cerdos. Se han propuesto distintos genes relacionados con el metabolismo. Así, Zhao y col.



(2009) apuntan a que la mayor proporción de grasa intramuscular de los cerdos Wujin respecto a los Landrace se debe a que los primeros tienen mayores niveles de expresión de los genes FAS, SREBP-1c, SCD, A-FABP y H-FABP, y menores de los genes CPT-1B, HSL y ATGL. Los genes SREBP-1c y FAS son lipogénicos; los genes H-FABP y A-FABP son transportadores de ácidos grasos; el gen CPT-1B es oxidativo; y los genes HSL y ATGL son lipolíticos.

#### **1.6.1.2. Zona anatómica**

La distribución de triglicéridos y fosfolípidos en el organismo depende del tejido considerado, de tal manera que los primeros aparecen en mayor proporción en tejidos grasos como el adiposo o el hepático. En cambio, los segundos predominan en el tejido muscular y, sobre todo, en el nervioso lo que se debe a que los fosfolípidos tienen una localización preferencial en las membranas celulares, mientras que los triglicéridos se almacenan en vacuolas citoplasmáticas que, en el caso de los adipocitos, pueden fusionarse en una sola y ocupar gran parte del volumen celular total. Por el contrario, la acumulación de triglicéridos en los miocitos es mucho más reducida y en las neuronas casi despreciable.

En el cerdo, destacan cuatro regiones anatómicas de gran deposición grasa (Monziols y col., 2007): visceral, subcutánea, intermuscular (dispuesta entre los músculos) e intramuscular (infiltrada dentro de los músculos). Este modelo es común a la totalidad de los animales de abasto.

#### **1.6.1.3. Edad**

Es uno de los factores tradicionalmente más relacionados con el engrasamiento de mamíferos y aves. Algunos autores (Yang y col., 2010), trabajando con "mini pigs" de raza Guizhou, observaron que en un primer momento la grasa de los animales (medida en tejido adiposo subcutáneo y en intramuscular) iba disminuyendo en el tiempo, hasta alcanzar un punto de inflexión, a partir del cual aumentaba hasta el sacrificio. La disminución inicial ha sido constatada también en cerdos comerciales Duroc x (Landrace x Yorkshire) (Correa y col., 2006) y en hembras Large White x Landrace

x Duroc (D'Souza y col., 2004). Se estima que se debe a una reorientación de la energía hacia el crecimiento óseo y muscular, en vez de emplearse en la deposición grasa (Yang y col., 2010).

Desde un punto de vista tecnológico, debe considerarse que un contenido graso superior en la carne de los animales viejos no implica una mayor ternura de la misma, sino más bien al revés. Esto es debido a que la grasa no influye demasiado en la dureza y a que el colágeno, aunque se reduce con la edad, presenta un número más elevado de entrecruzamientos (Bailey y Robins, 1976).

#### **1.6.1.4. Sexo**

Desde hace tiempo se sabe que la deposición grasa está íntimamente ligada al sexo del animal. El porcentaje de tejido muscular en las canales masculinas es mayor que en las femeninas las cuales, a su vez, presentan un engrasamiento superior (Razmaitè y Kerzienne, 2009; Giles y col., 2009). Sin embargo, cabe reseñar que algunos autores no han encontrado diferencias al respecto (Blanchard y col., 1999).

### **1.6.2. FACTORES EXÓGENOS**

#### **1.6.2.1. Temperatura**

La temperatura media idónea para la cría de cerdos está en torno a 20 y 25°C. En general, las altas temperaturas (superiores a 25°C) favorecen una menor deposición grasa. No obstante, la respuesta al frío y al calor difiere entre distintos sujetos pues quizás esté modulada por factores genéticos individuales (Marken Lichtenbelt y Daanen, 2003).

#### **1.6.2.2. Dieta**

La dieta es el factor que más influye en la deposición de grasa en los animales de abasto. En el caso de los cerdos, Lebret (2008) afirma que una restricción del alimento frente a una aportación *ad libitum* da lugar a canales más magras. Por el contrario, un

suministro *ad libitum* aumenta el engrasamiento de la canal y la grasa intramuscular.

Un aspecto interesante de la dieta es su contenido proteico y en energía. Una baja relación proteína:energía en la ración aumenta el engrasamiento de la canal, la grasa intramuscular, la intermuscular y la subcutánea (Lebret, 2008; Nieto y col., 2003). Si lo que se reduce es la energía de la dieta, se produce un descenso en la deposición grasa (Dickerson y Teague, 1987). En cambio, una restricción simultánea del contenido proteico y energético induce una mayor presencia de grasa intramuscular pero no así de intermuscular y subcutánea (Costa y col., 2004). También es importante considerar la calidad de las proteínas, ya que el suministro de las mismas con deficiencia en algún aminoácido esencial –como la lisina- aumenta la deposición lipídica intramuscular y subcutánea, a expensas de disminuir el contenido magro (Witte y col., 2000; Castell y col., 1994; Kerr y col., 1995; Cisneros y col., 1996).

Por otra parte, existe cierta controversia en cuanto al tipo de grasa ingerida y su efecto en el engrasamiento de la canal. Numerosos autores han observado que Broilers alimentados con una dieta rica en PUFAs origina animales más magros que si estuvieran alimentados mediante dietas con elevados niveles de MUFAs o SFAs (Crespo y Esteve-García, 2001; Crespo y Esteve-García, 2002; Sanz y col., 1999). Sin embargo, en los cerdos existe una mayor evidencia experimental que apunta a que, a calorías iguales, el tipo de grasa no influye en la deposición lipídica (Realini y col., 2010; Apple y col., 2007; Eggert y col., 2007; Bee y col., 2002; Enser y col., 2000, etc.). Allee y col. (1972) afirman que la mayor o menor acumulación de grasa en el cerdo no depende de la fuente grasa consumida, sino de la cantidad de grasa incluida en la dieta.

#### **1.6.2.3. Castración**

Se trata de una manipulación muy difundida entre ganaderos pero no exenta de controversia, pues acarrea efectos positivos pero también negativos (Bonneau, 1998):

Entre los primeros destacan: mayor facilidad en el manejo de animales agresivos; disminución de la presencia de carnes DFD, al ser

menos activos los animales castrados; aumento del contenido graso en líneas magras; y reducción de los defectos derivados del olor sexual, mediado por la androsterona ( $5\alpha$ -androst-16-eno-3-ona) y el escatol (3-metil indol). Este último aspecto es el que más respalda la castración de los animales, ya que el olor de estos compuestos es rechazado por los consumidores.

Los efectos negativos de la castración son: empeoramiento del índice de conversión, necesitándose más pienso para iguales rendimientos cárnicos; perfil de ácidos grasos menos saludable; y mayor contenido graso de la canal, lo cual la resta valor comercial.

#### **1.6.2.4. Actividad física**

Las reservas energéticas de los animales se gastan en cubrir el metabolismo basal y afrontar el estrés, ambos de regulación involuntaria, y en satisfacer las demandas de la actividad física.

En relación a esto último, la oxidación lipídica para obtener energía no es igual en las distintas modalidades de ejercicio: el consumo es superior con una actividad moderada pero continua que con una de alta intensidad pero de baja duración (McClelland, 2004), lo que se debe a que el gasto energético en el segundo caso se cubre con una movilización de carbohidratos superior que en el primero. La mayor o menor movilización lipídica según el tipo de ejercicio es una adaptación muy conservada en casi todos los animales, siendo los insectos un caso extremo, pues ante una actividad continua de baja intensidad sólo consumen grasas. La razón por la cual se dan estas diferencias en la fuente energética consumida se basa en el "reclutamiento" de distintas fibras musculares. Ante ejercicios moderados actúan más fibras musculares rojas (tipo I, de contracción lenta u oxidativas); por el contrario, ante ejercicios intensos entran en juego sobre todo fibras musculares blancas (tipo II, de contracción rápida o glucolíticas).

Además, la actividad física produce modificaciones sustanciales en la grasa intramuscular, ya que ésta se incrementa en el ejercicio aeróbico, en detrimento de otros depósitos grasos del organismo.

#### **1.6.2.5. Sustancias promotoras del crecimiento**

Existen numerosos compuestos anabolizantes que aumentan la proporción de tejido muscular y disminuyen la deposición lipídica, además de conseguir una ganancia media diaria de peso más elevada. La utilización de estos productos en animales de abasto es muy controvertida ya que algunas sustancias están autorizadas en determinados países, mientras que en otros su empleo se considera un fraude e incluso un delito contra la salud pública. En Europa, su uso suele estar totalmente prohibido o limitado a determinadas situaciones terapéuticas, siempre bajo supervisión veterinaria.

Las sustancias promotoras del crecimiento pueden clasificarse en tres grupos: hormonas, agentes tireostáticos (o antitiroideos) y  $\beta$ -agonistas. Estos últimos son los que consiguen una reducción más drástica de la grasa a favor del magro. Se trata de sustancias con actividad adrenérgica, que desvían la energía obtenida en el metabolismo hacia la síntesis de tejido muscular -entre otras cosas- bloqueando la lipogénesis (Peterla y Scanes, 1990). Además, la acción anabolizante de los  $\beta$ -agonistas se potencia si su suministro se combina con el de ciertas hormonas (Maltin y col., 1990; Sillence y col., 2002). Entre estos compuestos (salbutamol, cimaterol, etc.), el más conocido es el clenbuterol, cuyo uso está permitido en ciertas patologías como broncodilatador o como relajante del músculo uterino. Sus efectos no sólo se han estudiado en el ganado porcino (Gojmerac y col., 2000; Blanco y col., 2002), sino también en otros animales productores de carne, como son los rumiantes (Shindarska, 1995; Young y col., 1995; Bareille y Faverdin, 1996), los conejos (Hulot y col., 1996) e incluso los pollos de carne (Schiavone y col., 2004).

## **1.7. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE ANIMALES DE ABASTO, CON ESPECIAL REFERENCIA AL CERDO**

El perfil de ácidos grasos de la carne está determinado por numerosos factores, algunos de los cuales son comunes a aquellos que influyen en la cuantía y distribución de la grasa (véase apartado 1.6.). Destacan los siguientes factores:

### **1.7.1. FACTORES ENDÓGENOS**

#### **1.7.1.1. Genética**

##### **1.7.1.1.a. En cuanto a especies ganaderas**

Rhee (1992), elaboró tablas comparativas de concentraciones de ácidos grasos en distintas especies ganaderas, con datos procedentes del "*National Livestock and Meat Board*" y del "*USDA Agriculture Handbook 8 Series*", lo que permitió establecer diferentes órdenes decrecientes según se consideraran SFAs, MUFAs o PUFAs. Cuando todos ellos se expresaban como g de ácidos grasos/100 g de magro crudo o cocido, se obtenían las siguientes listas:

En SFAs totales:

Bovino (adulto) > ovino > bovino (ternera) > porcino > pollo (pechuga) > pollo (muslo).

En MUFAs totales:

Bovino (adulto) y porcino > ovino > bovino (ternera) > pollo (muslo) > pollo (pechuga, en carne cruda). Bovino, porcino, ovino (cordero) y bovino (ternera) > pollo (pechuga) y pollo (muslo), ambos grupos en carne cocinada.

En PUFAs totales:

Pollo (pechuga y muslo) > bovino (ternera) y porcino > ovino > bovino (adulto).

En cambio, al referir los porcentajes de ácidos grasos al tejido adiposo (g de ácidos grasos/100 g de grasa), las secuencias varían del siguiente modo:

En SFAs totales:

Bovino (ternera) > bovino (adulto), ovino > porcino > pollo.

En MUFAs totales:

Bovino y porcino > ovino y pollo.

En PUFAs totales:

Pollo > porcino > ovino > bovino (ternera) > bovino (adulto).

Estas comparaciones ponen de relieve ciertas diferencias en el perfil de ácidos grasos de las distintas especies:

En primer lugar, existe un claro predominio de SFAs en bovinos y ovinos. La razón se encuentra en que estos animales disponen de una compleja microbiota ruminal, que hidrogena los ácidos grasos insaturados ingeridos (Lundy y col., 2004). Dicha actividad se manifiesta en un mayor índice de saturación de la grasa láctea y corporal del animal. La actividad hidrogenadora del rumen complica las estrategias orientadas a modificar con precisión el perfil de ácidos grasos en los productos derivados de estos animales.

En segundo lugar, las aves presentan un contenido de PUFAs superior al de los mamíferos. Esta situación –junto a otras razones puramente zootécnicas– ha motivado que la industria cárnica de los países desarrollados esté intentando reducir el contenido graso total y la concentración de SFAs en la carne de los mamíferos de abasto.

#### **1.7.1.1.b. En cuanto a razas e híbridos porcinos**

Se ha demostrado repetidas veces que la composición en ácidos grasos de la carne del cerdo se ve influida por el genotipo del animal. Así, Niños y col. (2007), trabajando con cerdos Ibéricos puros y con cruces Ibérico x Duroc, observaron que los primeros tienen un mayor contenido en MUFAs (debido, sobre todo, a un aumento del ácido oleico) y uno menor en PUFAs que los segundos. Igualmente, Antequera y col. (1994) encontraron una mayor cantidad de MUFAs (también debida a un aumento del ácido oleico) en los cerdos Ibéricos

al compararlos con híbridos Ibérico x Duroc pero, a diferencia de Niños y col. (2007), observaron que los Ibéricos puros también presentaban un contenido superior de PUFAs.

Una de las mejores maneras de observar diferencias en el perfil de ácidos grasos de los cerdos es comparar animales muy seleccionados para producción cárnica con animales autóctonos, los cuales suelen tener mayor deposición grasa. Así pues, el equipo de Lu y col. (2008), compararon razas autóctonas chinas (Lantang, Dahuabai, Laiwu, Rongchang y Tongcheng) con un híbrido de alta producción (Duroc x Landrace x Large White). Este último presentó más PUFAs totales en los lípidos neutros que las razas autóctonas, debido a un aumento del LA. En relación a los PUFAs de los fosfolípidos, el mayor contenido lo tuvieron el híbrido y la raza Tongcheng. En el músculo *Longissimus dorsi*, las razas tradicionales chinas presentaron un contenido superior de SFAs a expensas del C14:0 (mirístico) y el C16:0 (palmítico). Un resultado similar de los SFAs fue hallado por Wood y col. (2004) en los lípidos neutros de razas autóctonas inglesas (Berkshire y Tamworth) al compararlas con razas modernas (Duroc y Large White). Estos autores propusieron que la mayor síntesis *de novo* de C14:0 y C16:0 es una característica propia de animales tradicionales de alto engrasamiento. En otra investigación (Lugasi y col., 2006) con animales autóctonos (raza Mangalica Húngaro) y animales de alta producción (híbrido Large White Húngaro x Landrace Holandés) se obtuvieron resultados diferentes, ya que las proporciones de SFAs totales no difirieron entre animales tradicionales y de alta producción, si bien el contenido en C18:0 (esteárico) fue mayor en el Mangalica. Además, al igual que ocurre en el cerdo Ibérico, este último presentó un contenido superior en MUFAs totales, sobre todo a expensas del ácido C18:1. La raza Mangalica también presentó menores PUFAs totales que el híbrido de alta producción.

Por otra parte, Pascual y col. (2006), llegaron a resultados diferentes de los expuestos anteriormente. Partiendo de tres razas (Landrace, Large White y Duroc) y un híbrido (Landrace x Duroc) hallaron que la raza pura Duroc presentó un mayor contenido en LA y uno menor en esteárico que las demás razas y el híbrido.



Cabe concluir que numerosos cruces y razas pueden diferir significativamente en cuanto a su composición en ácidos grasos. Por desgracia, los resultados no siempre son comparables ya que dentro de una misma raza, p. e., la Duroc, puede haber diferencias significativas en cuanto a su composición en ácidos grasos. Algo parecido sucede con los numerosos híbridos comerciales porcinos existentes en el mercado, los cuales también pueden diferir bastante entre sí.

Varios autores (Cameron y col., 2000; Niños y col., 2007 y Pascual y col., 2006) sostienen que, a pesar de que se pueden modificar las proporciones de ciertos ácidos grasos a través de los cruzamientos, esta técnica ofrece resultados pobres si se compara con las modificaciones que pueden alcanzarse a través de la dieta de los animales.

#### **1.7.1.2. Sexo**

Numerosas investigaciones no han evidenciado diferencias entre machos y hembras en el perfil de ácidos grasos de la carne y/o del tejido adiposo del cerdo. Sin embargo, en la mayor parte de estos estudios se compararon hembras con machos castrados. Ciertas investigaciones sí que han empleado machos enteros, observando diferencias en la proporción de algunos ácidos grasos con respecto a las hembras.

#### **1.7.1.3. Zona anatómica**

En el cerdo, la saturación de la grasa se incrementa desde las capas más superficiales hacia las más internas del organismo (Schinkel y col., 2002). Esta característica es común a todos los animales homeotermos pues permite una correcta fluidez de la grasa, ya que la temperatura aumenta según se profundiza en el interior del organismo. Sin embargo, esto no concuerda con la consistencia de la grasa que, en contra de lo esperado, suele ser mayor en las zonas superficiales. Este fenómeno se ha atribuido a una estructura más organizada del tejido adiposo de dichas regiones. La variación del perfil de ácidos grasos según se profundiza en el animal se refleja en todas sus partes, incluso en las extremidades.

Los ácidos grasos de los fosfolípidos suelen ser más insaturados que los de los triglicéridos. Ello permite una correcta actividad de las membranas celulares, las cuales verían muy reducida su fluidez ante una elevada proporción de SFAs (Nagura y col., 2004). Una situación así sería incompatible con la vida, al repercutir en un peor funcionamiento de las proteínas de membrana, de la exo- y endocitosis, o incluso de la actividad de los orgánulos celulares. La insaturación superior de los fosfolípidos hace que en el cerdo exista una tendencia a que los PUFAs sean más abundantes en los músculos que en los depósitos grasos. La razón se encuentra en que en el tejido muscular existe una densidad celular muy superior a la del tejido adiposo.

Si se comparan los órganos y vísceras con el tejido muscular se aprecia que en ellos existe una mayor cantidad de fosfolípidos (y consecuentemente de PUFAs), siendo el sistema nervioso el caso más significativo, con un 83% (Anderson, 1988).

#### **1.7.1.4. Edad**

Es un factor que no parece ejercer gran influencia, por sí mismo, en la proporción de ácidos grasos de la carne de cerdo. Se ha observado que la saturación de la grasa a nivel muscular aumenta con la edad, pero es posible que se deba a la mayor deposición de triglicéridos en los animales más viejos.

En el caso de los rumiantes, se aprecia además un incremento positivo en los SFAs como consecuencia del desarrollo progresivo de la microbiota ruminal (Hoflund y col., 1956).

### **1.7.2. FACTORES EXÓGENOS**

#### **1.7.2.1. Dieta**

Es el factor exógeno que más afecta a la composición en ácidos grasos de los animales con estómagos monocavitarios. A pesar de existir ácidos grasos que se generan por síntesis *de novo* o por reacciones de elongación y desaturación, se observa que una clara mayoría de los absorbidos se incorpora directamente, sin apenas

sufrir modificaciones. Desde hace tiempo, se constató que los cerdos alimentados con una dieta rica en semilla de soja presentaban una grasa blanda y oleosa debida a la acumulación de ácido oleico (Ellis e Isbell, 1926a,b). Es más, cerdos que han recibido en su dieta aceite de atún en grandes cantidades dieron lugar a productos cárnicos altamente susceptibles al enranciamiento, al depositar en sus tejidos los ácidos grasos de este pescado (Khiaosa-ard y col., 2011). Dicha correlación entre los lípidos ingeridos y los acumulados se manifiesta con claridad en animales de estómago monocavitario, hasta tal punto que el perfil de ácidos grasos de los tejidos resulta ser un reflejo más o menos claro del de la ración.

Con el fin de conocer qué ácidos grasos del cerdo procedían de la síntesis *de novo*, es decir, cuáles eran producidos por el animal con independencia de los aportados en la dieta, Leat y col. (1964) llevaron a cabo un estudio hoy en día considerado como clásico. En él suministraron dietas exentas de grasa a los cerdos y, al analizar el tejido adiposo, hallaron los siguientes porcentajes de ácidos grasos: oleico 55%, palmítico 24%, esteárico 13%, LA inferior al 1% y ausencia casi total de ALA, concluyendo que el escaso ALA procedía de la alimentación previa al experimento.

El claro reflejo de la dieta en la composición del tejido adiposo de los animales con estómago monocavitario, no resulta tan obvio en los rumiantes. Estos presentan una compleja microbiota ruminal que hidrogena los ácidos grasos ingeridos. Estos se transforman en isómeros *trans* y en SFAs previamente a su absorción. Entre los agentes implicados en el proceso de biohidrogenación destacan -por su intensa actividad- las bacterias de los géneros *Selenomonas* (*S. ruminantium*) y *Butyrivibrio*, sobre todo las especies *B. fibrisolvens* y *B. hungatei* (Fujimoto y col., 1993; Kim, 2003; Vossenberg y Joblin, 2003).

#### **1.7.2.2. Castración**

La grasa de los animales castrados tiene un grado de saturación superior a la de los enteros. Ello quizás se deba a que los cerdos castrados almacenan en sus tejidos más grasa en forma de triglicéridos, los cuales tienen más ácidos grasos saturados que los

fosfolípidos. Aunque el efecto de la castración sobre los ácidos grasos es notable, Wood y col. (1986) afirman que dicho efecto es inferior al que se puede conseguir a través de la grasa de la dieta.

## **1.8. ESTRATEGIAS PARA MODIFICAR EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LA CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS DEL CERDO**

Cabe destacar tres métodos fundamentales para variar la composición de ácidos grasos. Los dos primeros no emplean técnicas de ingeniería genética mientras que el tercero sí que hace uso de la misma:

### **1.8.1. ADICIÓN DIRECTA DE ÁCIDOS GRASOS EN EL PRODUCTO**

Se han realizado numerosos intentos satisfactorios para aumentar el contenido de ciertos ácidos grasos en los alimentos, añadiéndolos directamente en los mismos. En el caso de los productos del cerdo, se han enriquecido embutidos crudos curados en PUFAs n-3, como los procedentes de aceite de pescado (Muguerza y col., 2004), los de linaza (Ansorena y Antiasaran, 2004a) o los de lino (Pelser y col., 2007), incluyéndolos en la formulación. Asimismo, se han llevado a cabo ensayos en los que se ha producido un enriquecimiento en MUFAs mediante la incorporación de aceite de oliva (Ansorena y Antiasarán, 2004b) o de soja (Muguerza y col., 2003).

En otros embutidos del cerdo, como las pastas finas, también se ha llevado a cabo la adición de ácidos grasos, con el fin de modificar su composición lipídica. Es el caso de la mortadela (Cáceres y col., 2008), de las salchichas de Fráncfort (López-López y col., 2009a) y de los embutidos frescos (Valencia y col., 2008).

Igualmente, se ha aplicado esta técnica a derivados cárnicos del vacuno con resultados satisfactorios (Kayaardi y Gök, 2003; Bilek y Turhan, 2009).

La inclusión de ácidos grasos en el producto final se ha extendido a otros alimentos como el pan (Yep y col., 2002), la leche (Castro y col., 2004), el surimi, etc., obteniéndose resultados prometedores.

Los procedimientos seguidos para la adecuada homogeneización de los lípidos que se añaden al producto suelen ser la preemulsión de los mismos y, en menor medida, la microencapsulación. Esta grasa que se añade sustituye parcialmente a la original del alimento, si bien existe un límite para la cantidad que puede ser sustituida, el cual dependerá del tipo de grasa que se introduzca y del producto a modificar. La adición directa de ácidos grasos en el alimento presenta como principales ventajas una gran facilidad y precisión de dosificación, y la posibilidad de utilizar ácidos grasos de fuentes muy diversas. Su limitación más relevante es la dificultad de incorporación en productos de difícil homogeneización y/o con estructura cerrada, como es el caso de los huevos o las piezas cárnicas enteras (jamón curado, filetes, panceta, etc.).

### **1.8.2. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS A TRAVÉS DE LA DIETA**

Cabe destacar al respecto los ensayos realizados para aumentar la insaturación de la grasa, basados en el suministro de aceite de canola (variedad de aceite de colza rico en ácido oleico y pobre en erúcico y en glucosinolatos) en proporciones entre el 10 y 20% en la ración porcina. Sin embargo, el suministro de dietas con elevadas cantidades de lípidos insaturados origina efectos adversos, como depósitos grasos muy blandos (St. John y col., 1987) y elevada susceptibilidad a la autooxidación (Rhee y col., 1988a). Para evitar estos inconvenientes se ha utilizado una variedad de aceite de girasol rica en ácido oleico: HOSO (*High Oleic Sunflower Oil* o "aceite de girasol alto oleico"), con al menos un 85% de dicho ácido graso. Las canales resultantes de cerdos alimentados con dietas que contenían un 12% de HOSO aún eran aceitosas, pero en mucha menor medida que las procedentes de cerdos alimentados con raciones cuya fuente lipídica era el aceite de canola. La persistencia de cierta textura aceitosa se debía al aumento del contenido de ácido oleico (C18:1n-9) y a la reducción del de esteárico (C16:0). Estas modificaciones se observaron tanto en el tejido muscular como en el adiposo (Rhee y col., 1988b).

Actualmente, los cerdos producidos en sistemas intensivos son alimentados con dietas ricas en cereales (generalmente maíz y en menor medida girasol, etc.), las cuales contienen altas proporciones de LA pero su contenido en ALA es muy bajo para cubrir las necesidades nutricionales humanas (Enser y col., 1996).

El aumento del contenido de PUFAs n-3 en el músculo y otros tejidos del cerdo puede conseguirse mediante la inclusión de aceite de linaza o de otros vegetales ricos en ALA, o bien añadiendo aceite de pescado (rico en EPA y DHA). En el segundo caso existen ciertas dificultades de empleo:

- Problemática ecológica por la obtención de la materia prima, debido a la sobreexplotación de los recursos pesqueros.
- Transmisión de olores y sabores anómalos y dificultades en el almacenamiento del pienso por su elevada susceptibilidad a la autooxidación lipídica (Chaijan y col., 2006).

Estos motivos son parcialmente responsables de la aceptación que tiene la incorporación de ALA de origen vegetal (Rhee y col., 1988a; Cunnane y col., 1990; Cherian y Sim, 1995; Ahn y col., 1996; Romans y col., 1995a,b; Specht-Overholt y col., 1997; Beckova y Vaclavkova, 2010; Riley y col., 1998a,b; Enser y col., 2000; Riley y col., 2000; Wiseman y col., 2000) y de EPA y DHA procedentes de algas (López-López y col., 2009b). El aceite de linaza constituye una fuente muy adecuada de ALA pues contiene en torno al 50% de este ácido, lo que permite incluir una cantidad variable de ALA en el pienso, al emplear el aceite mismo o las semillas de linaza. Dicha dieta tendrá su reflejo en una mayor proporción de ALA en los distintos tejidos porcinos. Investigaciones acerca del enriquecimiento de la dieta en este ácido graso han sido observados, además de en cerdo, en otras especies animales con estómago monocavitario, como conejo (Bosco y col., 2004), pollo (Ayerza y col., 2002) o trucha (Zelenka y col., 2003). Igualmente, se ha conseguido aumentar el contenido de dicho ácido en la carne de rumiantes (Raes y col., 2004).

No obstante, debe tenerse en cuenta que existe un límite en la adición de ALA en la ración porcina. Esto es debido a las

modificaciones sensoriales que puede ocasionar en la carne y productos cárnicos obtenidos de la misma. A este respecto, Sheard y col. (2000), sobre la base del trabajo de Enser y col. (2000), establecieron los niveles de C18:3n-3 del 1,5, 1,8 y 2,4% en hígado, músculo y tocino, respectivamente, que no influían negativamente en la calidad química y sensorial de la carne y productos cárnicos. Sin embargo, Romans y col. (1995b) indicaron que en el beicon procedente de cerdos cuyos tejidos contenían 1, 2,5 y 2,1% de ALA en hígado, músculo y grasa, respectivamente, sí se apreciaban diferencias sensoriales. Obviamente, estos hechos indican que los anteriores límites deben aceptarse como máximos, si se quieren evitar efectos adversos en la calidad sensorial de los derivados cárnicos.

Actualmente también se han efectuado investigaciones para enriquecer tanto la carne (Ostrowska y col., 2003; Thiel-Copper y col., 2001; Tischendorf y col., 2002) como algunos productos cárnicos (Corino y col., 2003) del cerdo en ácido linoleico conjugado (CLA). Este ácido está formado por varios isómeros posicionales y geométricos del LA. Podría presentar un gran interés desde un punto de vista nutricional por los múltiples efectos fisiológicos que se le atribuyen. Sin embargo, la EFSA (2010) opina que "no hay evidencias convincentes de que cualquiera de los isómeros conjugados del ácido linoleico desempeñe un papel en la prevención o producción de enfermedades relacionadas con la dieta".

El enriquecimiento de los alimentos en ácidos grasos a través de la dieta suministrada a los animales encuentra su mayor inconveniente en la dificultad para dosificarlos. Es por ello que no es fácil conseguir modificaciones lipídicas muy precisas. En cambio, presenta como ventajas fundamentales su distribución homogénea en el producto y la posibilidad de enriquecer alimentos de estructura cerrada (huevos, jamón curado, etc.). Otro aspecto destacado de este método con respecto al anterior consiste en el aprovechamiento de los equipos enzimáticos de elongación y desaturación de los animales de abasto. De este modo, es factible aumentar distintos ácidos grasos en su organismo, incluyendo sólo algún tipo particular en la dieta. Éste, actuará como precursor de otros que dispondrán de un mayor



número de átomos de carbono y/o insaturaciones. No obstante, el aumento del contenido de ciertos ácidos grasos mediante elongación y desaturación no es tan eficaz como su administración directa en la ración. Por ello, sólo deberá emplearse cuando no sea necesario obtener grandes cantidades de los mismos y/o resulte más rentable desde un punto de vista económico. Numerosos autores han observado fenómenos de elongación y desaturación en animales de abasto y sus productos, p. e.: en peces (Moya-Falcon y col., 2005; Meyer y col., 2004), vacuno de aptitud cárnica (Choi y col., 2000), cerdos (Cunnane y col. 1990), pollos de carne (Olomu y Baracos, 1991), huevo de gallina (Scheideler y col., 1998), leche de vaca (Hagemeister y col., 1992), etc.

### **1.8.3. APLICACIÓN DE TÉCNICAS GENÉTICAS**

Desde hace unos años se está empleando la ingeniería genética en el enriquecimiento en PUFAs de ciertos vegetales. Ello se ha conseguido introduciendo genes que codifican desaturasas de las que estos carecen (Ursin, 2003). Así pues, Qi y col. (2004) han transformado con éxito plantas de la especie *Arabidopsis thaliana*, mediante genes de algas y hongos que codificaban las desaturasas necesarias para producir EPA (n-3) y AA (n-6). Existe también arroz transgénico que expresa un gen que codifica una desaturasa del tabaco, permitiendo un enriquecimiento de la planta en ALA, en detrimento del LA. Sin embargo, dicha modificación redujo la fertilidad, o produjo esterilidad, de las semillas transformadas en porcentajes en torno al 50% (Wakita y col., 1998). También se han observado efectos colaterales en variedades de maíz transformadas con genes de *Arabidopsis thaliana* que codificaban desaturasas responsables de la producción de ácidos grasos n-3 (Berberich y col., 1998).

En animales no existen demasiadas investigaciones al respecto. Cabe destacar los resultados de Saeki y col. (2004). En su investigación crearon cerdos transgénicos, empleando un gen que codifica la  $\Delta^{12}$ -desaturasa (enzima esencial para la síntesis de LA) de la espinaca. Demostraron así la viabilidad de modificar con éxito

animales introduciéndoles genes vegetales. De los cerdos extrajeron adipocitos y evaluaron su perfil de ácidos grasos, encontrando un contenido diez veces superior de LA que en animales no sometidos a la modificación genética.

También se ha conseguido modificar animales para aumentar el contenido en ácidos grasos n-3 de sus tejidos. Así pues, se ha transferido el gen *fat-1* del gusano *Caenorhabditis elegans* a ratas, lo que permitió disminuir la relación n-6:n-3 del tejido adiposo desde 5,9:1 hasta 1,45:1 (Ge y col., 2002), al reducir el porcentaje de ácidos grasos n-6 y aumentar el de n-3. El mismo gen se introdujo también en ratones (Kang y col., 2004) obteniéndose resultados similares.

El empleo de una u otra técnica para mejorar el perfil de ácidos grasos de la carne y los productos cárnicos vendrá determinado por factores económicos, socio-culturales, tecnológicos, etc.

## **2. LA VITAMINA E COMO AGENTE AN- TIOXIDANTE**

## 2.1. GENERALIDADES DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA

El complejo mecanismo de las reacciones que acontece en la oxidación lipídica de los alimentos se viene estudiando o revisando desde hace tiempo por numerosos autores (Love, 1987; Kinsella, 1988; Martin, 1988; Hamilton, 1994; Molnar, 1989; Lawless, 1991; Karel, 1992; Ordóñez y col., 1998a; Kanner, 1992; Decker y Hultin, 1992; Simic y col., 1992; Spiteller, 1998; Monahan, 2000; Wander, 2001; Lam y Proctor, 2003; Calligaris y col., 2004; Richards y Li, 2004; Gómez y col., 2004; Wiking y Nielsen., 2004; Nanditha y Prabhasankar, 2009, etc.).

La oxidación lipídica está ligada a la presencia de radicales libres que se generan en los seres vivos (protones, oxígeno *singlete* y radicales como el superóxido, el hidroxilo, el ferrilo, etc.). En alimentos, los sustratos de oxidación más importantes son los ácidos grasos insaturados, mientras que la oxidación de los SFAs es, a temperatura ambiente, nula o despreciable. Por otra parte, los ácidos grasos libres son más fácilmente oxidables que los que constituyen los fosfolípidos y los triglicéridos.

Ante la presencia de ciertos agentes catalíticos (luz, metales, altas temperaturas, etc.), el oxígeno puede interaccionar con un ácido graso iniciando un fenómeno oxidativo. A partir de esta interacción aparece un radical libre que comienza una reacción catalítica en cadena. Poco a poco los radicales formados reaccionarán entre sí, dando lugar a productos más o menos estables. Estas sustancias tienen una gran relevancia en los alimentos, pues modifican sus propiedades sensoriales, sobre todo el olor, color y sabor. Es por ello que se intenta controlar aquellos factores que intervienen en la autooxidación, ya sean agentes causales y/o moduladores de la misma. Entre todos ellos destacan los radicales libres, los catalizadores, la insaturación de la grasa, las sustancias con actividad antioxidante, la temperatura, la atmósfera en la que se encuentra el alimento, las radiaciones ionizantes y no ionizantes, la disposición de las sustancias fácilmente oxidables (emulsión, disolución, ácidos

grasos libres o esterificados, etc.), las enzimas oxidantes (ciclo- y lipooxigenasas), etc.

Sin embargo, actualmente también se están observando posibles implicaciones médicas de la oxidación, al encontrarse ésta relacionada con diversas patologías, ya sea por un exceso o un defecto de oxidación. Algunas enfermedades destacables son: tumores (Ziech y col., 2010; Kobliakov, 2010), afecciones cardiovasculares (Yoshida y Kisugi, 2010; Levitan y col., 2010), esteatosis hepática (Videla y col., 2004) y alteraciones neurológicas (Perluigi y col., 2010; Jomova y col., 2010; Nunomura y col., 2004; Chauhan y col., 2004), entre otras.

En alimentos, la oxidación tiene importancia por tres razones:

- Formación de productos tóxicos. Como resultado de la oxidación lipídica se originan sustancias con posibles efectos perjudiciales para la salud aunque dicha toxicidad, mediada por la dieta, sólo se ha demostrado en animales de experimentación (Nwanguma y col., 1999; Isong y col., 2000; Hwang y col., 2000; Battino y col., 2002) y en cultivos celulares (Maguire y col., 2003; O'Sullivan y col., 2003). Posiblemente la toxicidad se deba a la elevada cantidad de lípidos oxidados que se suministraron a los animales en estos estudios. Entre otros efectos tóxicos encontrados en las sustancias derivadas de la oxidación, están los producidos en la respiración mitocondrial (Battino y col., 2002; Long y col., 2009), en los microsomas (Quiles y col., 2002), los referidos a mutagénesis y citotoxicidad (Kawai y col., 2010; O'Callaghan y col., 2010), etc.
- Deterioro de la calidad sensorial (Shahidi y Zhong, 2010). En la mayor parte de los alimentos, la oxidación lipídica conlleva un empeoramiento de las propiedades sensoriales. Para evitar esta situación, se han diseñado diversas estrategias como el envasado en atmósferas modificadas, la adición de antioxidantes, el control de la temperatura, etc.
- Mejora de las cualidades organolépticas. En algunos alimentos -como jamón curado, queso o embutido curados, entre otros- es deseable un cierto grado de oxidación pues, junto a sustancias

procedentes de actividades enzimáticas endógenas o microbianas, contribuye decisivamente al olor y sabor característicos de dichos alimentos (Ordóñez y col., 1999; Ventanas y col., 2010; Gandemer, 2009).

En la oxidación lipídica se distinguen tres fases que se superponen en el tiempo salvo al comienzo de la primera (Ordóñez y col., 1998a; Nanditha y Prabhasankar, 2009). Se resumen en:

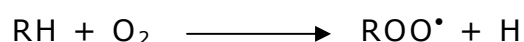
#### A. Iniciación:

Se forman radicales libres debido a la absorción de oxígeno por parte de los ácidos grasos insaturados. En el caso del oxígeno, de todas las especies químicas existentes la que inicia la oxidación es el *singlete*.

Puede producirse de dos formas:

##### A.1. A partir del grupo carbonilo del ácido graso:

Aquí el ácido graso insaturado (RH) cede un protón en el carbono  $\alpha$ -metilénico y se transforma en un radical libre. Para ello se requiere una elevada energía de activación (145-270 kJ / mol) por lo que se precisa un agente catalizador (metales, altas temperaturas, etc.).

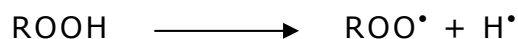
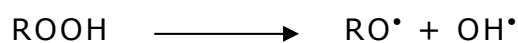


Siendo  $\text{R}^{\bullet}$  el radical alcoholilo y  $\text{ROO}^{\bullet}$  el radical peróxido.

##### A.2. A partir del grupo carboxilo del ácido graso:

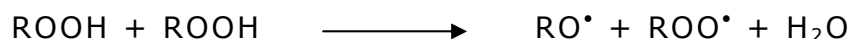
En este caso se requiere una energía de activación inferior que variará según se trate de una reacción mono- o bimolecular.

Cuando es monomolecular, la energía de activación para que se de la reacción de 85 kJ / mol y se producirá del siguiente modo:



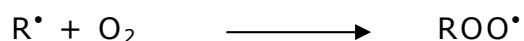
Siendo  $\text{RO}^\bullet$  el radical alcoxi.

Cuando la reacción se produce por un mecanismo bimolecular es necesaria una mayor energía de activación, de 105 kJ/mol, y se desarrolla del siguiente modo:



#### B. Propagación:

Los radicales alcohol que se formaron durante la iniciación pueden combinarse con el oxígeno dando lugar a radicales peróxido, los que, a su vez, pueden sustraer hidrógeno de otro ácido graso insaturado y generar un nuevo radical libre. Estas reacciones precisan una energía de activación muy baja (12-20 kJ/mol) y se repiten consecutivamente a modo de reacción en cadena.

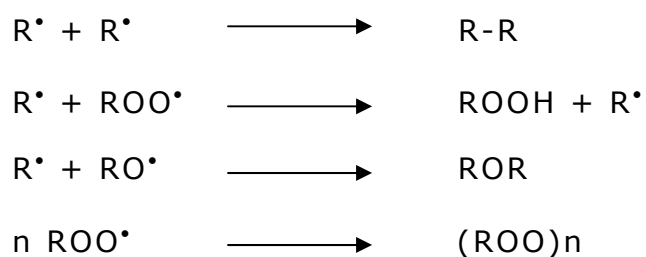


Las reacciones de la fase de propagación son muy rápidas, ya que los radicales formados son altamente reactivos. Además, se consume una elevada cantidad de oxígeno y si el aporte de éste es ilimitado, puede llegarse a la oxidación total de los ácidos grasos insaturados presentes.

#### C. Terminación

Se produce por la interacción de los radicales entre sí, dando lugar a productos no reactivos. Si ya no existen más radicales

que puedan interaccionar con el oxígeno, el proceso concluye y se hace necesaria una nueva reacción de iniciación para que continúe la oxidación. Las principales reacciones que pueden tener lugar durante esta fase son:



Muchos de los productos finales generados por la oxidación lipídica (aldehídos, alcoholes, cetonas, furanos, etc.) son sustancias muy volátiles y con un bajo umbral olfatorio y sávido. Es por ello que adquieren un papel fundamental en el desarrollo del aroma de los alimentos en que se encuentran. Su espectro y concentración son determinantes para conferir al alimento sabor y olor agradables o indeseables y, en consecuencia, para la determinación de su grado de aceptación.

La tabla I.3. muestra algunos de los aldehídos más comunes resultantes de la oxidación.



**Tabla I.3. Algunos de los principales hidroperóxidos y aldehídos que pueden originarse en la oxidación de determinados ácidos grasos insaturados** (DeMan, 1992).

Ácido graso	Grupo metileno atacado	Hidroperóxidos isómeros	Aldehídos originados por descomposición de los hidroperóxidos
Oleico	11	11-hidroperoxi-9-eno	octanal
		9-hidroperoxi-10-eno	2-decenal
	8	8-hidroperoxi-9-eno	2-undecenal
		10-hidroperoxi-8-eno	nonanal
Linoleico	11	13-hidroperoxi-9,11-dieno	hexanal
		11-hidroperoxi-9,11-dieno	2-octenal
		9-hidroperoxi-10,12-dieno	2,4-decadienal
Linolénico	14	16-hidroperoxi-9,12,14-trieno	propanal
		14-hidroperoxi-9,12,15-trieno	2-pentenal
		12-hidroperoxi-9,13,15-trieno	2,4-heptadienal
	11	13-hidroperoxi-9,11,15-trieno	3-hexenal
		11-hidroperoxi-9,12,15-trieno	2,5-octadienal
		9-hidroperoxi-10,12,15-trieno	2,4,7-decatrienal

## **2.2. ANTIOXIDANTES DE USO ALIMENTARIO**

### **2.2.1. DEFINICIÓN**

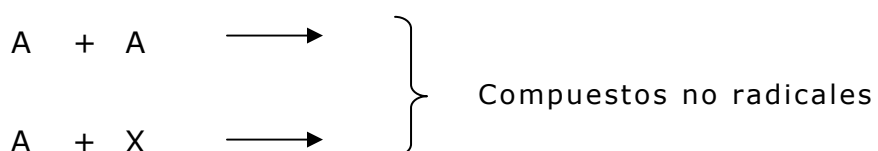
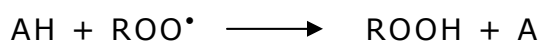
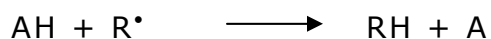
Los antioxidantes pueden definirse como "cualquier sustancia presente en baja concentración en relación al sustrato oxidable, que retrasa significativamente o previene la oxidación de dicho sustrato" (Nanditha y Prabhasankar, 2009). Existen cientos de compuestos, tanto naturales como sintéticos, con propiedades antioxidantes. Su empleo en alimentación debe cumplir ciertos requisitos, entre los cuales el más importante es que sean seguros para la salud. Otros también destacables son: bajo precio; no producir olores, sabores ni colores anómalos; efectividad a bajas temperaturas; resistencia a los tratamientos que se vaya a someter el alimento; facilidad de obtención; actividad a bajas concentraciones, etc.

### **2.2.2. CLASIFICACIÓN**

Los antioxidantes pueden clasificarse en tres categorías (Ordóñez y col., 1998a):

#### **2.2.2.1. Antioxidantes tipo I**

Son sustancias que pueden interrumpir la cadena de radicales cediendo un hidrógeno a un radical lipídico libre y quedando ellos en forma de radical. De este modo disminuyen el número de radicales libres, descienden la velocidad de la oxidación y prolongan la fase de inducción. Los antioxidantes en forma radical presentan estructuras resonantes con lo que son bastante estables y no reaccionan con los lípidos, sino con otras moléculas similares. En consecuencia dan lugar a productos no radicales, o bien sufren una posterior oxidación, dando quinonas. Sólo los compuestos fenólicos que producen quinonas fácilmente pueden considerarse como antioxidantes de este tipo. Las principales reacciones a que dan lugar durante su actuación se resumen en:



Algunos de los antioxidantes sintéticos más utilizados en la industria alimentaria son: TBHQ (ter-butilhidroquinona), BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno) y GP (galato de propilo). De todos ellos, el BHA y el BHT son los más empleados en productos de origen animal.

Antioxidantes naturales, como los tocoferoles, se emplean cada vez más porque su autorización tiene pocos problemas legales.

#### 2.2.2.2. Antioxidantes tipo II

Son compuestos de estructura química muy diversa que impiden o disminuyen la formación de radicales libres. Los más empleados son agentes quelantes de metales como el EDTA o el ácido cítrico. Su acción depende del pH y de la temperatura del medio en el que actúan, ya que estos parámetros gobiernan la estabilidad de los compuestos formados.

Otras sustancias que integran este grupo son aminoácidos, fosfatos, nitritos, etc.

#### 2.2.2.3. Antioxidantes tipo III

Incluyen todos aquellos procedimientos tecnológicos que protegen los alimentos de la oxidación y que no pueden encuadrarse en los dos grupos anteriores. Existen métodos basados en el control de parámetros físicos como la temperatura, la humedad relativa, la luz, etc. En cambio, otros regulan parámetros químicos tales como la cantidad de oxígeno, la composición del alimento, sobre todo en cuanto a saturación o insaturación de los ácidos grasos, etc.

En la práctica, se aplicará uno u otro tipo de antioxidante (I, II o III), según las necesidades tecnológicas, o bien se combinarán para potenciar su efecto.

### **2.2.3. TENDENCIAS EN LA UTILIZACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES**

Tradicionalmente se han empleado, y siguen usándose, antioxidantes de origen sintético. Sin embargo, desde hace unos años están apareciendo numerosos productos naturales en respuesta a una mayor demanda de los mismos por parte de los consumidores de países desarrollados. Así pues, se están investigando diversas sustancias de origen vegetal con el fin de intentar sustituir, o en la mayor parte de los casos reducir, el empleo de antioxidantes del tipo del BHT (butilhidroxianisol), BHA (butilhidroxitolueno), TBHQ (terbutilhidroquinona), etc. En general, aunque los nuevos antioxidantes son menos efectivos que los tradicionales, presentan la ventaja de que muchos de ellos son considerados sustancias GRAS (*Generally Regarded as Safe*) por la FDA, lo cual evita que haya limitaciones en la cantidad utilizada.

Muchos de los antioxidantes naturales presentes en diversas frutas, verduras, etc. tienen además propiedades saludables reconocidas. Ello podría permitir, en algunos casos, crear un alimento funcional y/o retrasar su enranciamiento (Borowska y col., 2005; Valenzuela y col., 2003; Bernardini y col., 2010). Las investigaciones sobre los beneficios para la salud de algunos antioxidantes naturales han dado lugar a una oleada de búsqueda de nuevos antioxidantes en diversos vegetales (Kelawala y Ananthanarayan, 2004), si bien aún se requieren bastantes estudios para evaluar su eficacia, tanto en el plano tecnológico como en el sanitario.

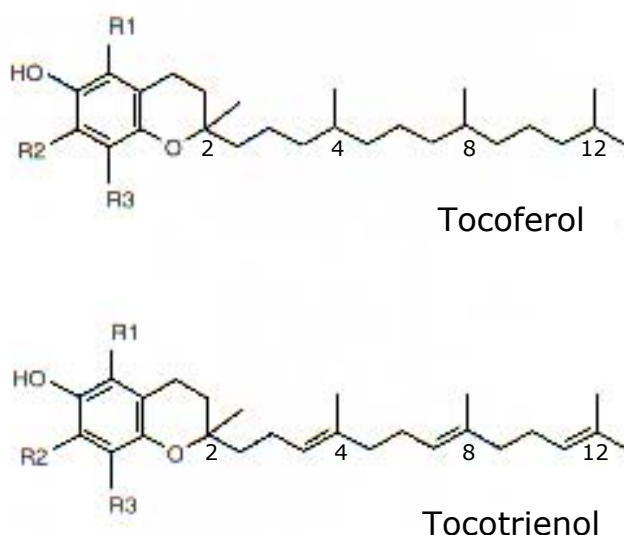
## 2.3. VITAMINA E

### 2.3.1. ESTRUCTURA QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y OTRAS FUNCIONES BIOLÓGICAS

#### 2.3.1.1. Estructura química

La vitamina E engloba una serie de compuestos denominados tocoferoles y tocotrienoles, cuyas estructuras aparecen en la figura I.11. Están constituidos por un grupo aromático y una cola hidrocarbonada, saturada en los tocoferoles e insaturada en los tocotrienoles, designados en ambos casos con las letras  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  según los radicales de las posiciones R1, R2 y R3 del anillo aromático (tabla I.4.). La vitamina E se encuentra en las membranas celulares, entre los fosfolípidos, el colesterol y las proteínas.

**Figura I.11. Estructura química de los tocoferoles y tocotrienoles.** Adaptada de Yang (2003) y Zingg (2007).



Debido a la presencia de tres centros quirales (2, 4', 8'), cada tocoferol presenta ocho estereoisómeros (RRR, RRS, RSR, RSS, SSS, SRR, SSR y SRS). Por otra parte, cada tocotrienol, debido a su centro quiral en posición 2 y a los dobles enlaces en las posiciones 3' y 7', tiene también ocho isómeros: R, cis-cis; R, cis-trans; R, trans-cis; R, trans-trans; S, cis-cis; S, cis-trans; S, trans-cis y S, trans-trans.

**Tabla I.4. Radicales de los tocoferoles y tocotrienoles  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ .**

Compuesto	Radical		
	R1	R2	R3
Tocoferol y tocotrienol $\alpha$	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
Tocoferol y tocotrienol $\beta$	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Tocoferol y tocotrienol $\gamma$	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
Tocoferol y tocotrienol $\delta$	H	H	CH <sub>3</sub>

### 2.3.1.2. Actividad antioxidante y otras funciones biológicas

Tradicionalmente se ha considerado a la vitamina E como una molécula capaz de inhibir la oxidación lipídica, tanto en seres vivos como en alimentos. Desde hace unos años, se ha descubierto que también desempeña un papel destacado en numerosos procesos biológicos no relacionados con dicha actividad antioxidante.

### 2.3.1.2.a. Actividad antioxidante

La vitamina E es un antioxidante de gran eficacia, superior a la de otras vitaminas como los carotenos. Se trata del antioxidante natural liposoluble más potente debido a (Schneider, 2005):

- 1- Su reactividad extremadamente rápida con los radicales peróxido, lo que evita la interacción de estos con otras moléculas.
- 2- La capacidad para "llevarse consigo el carácter radical" de los ácidos grasos oxidados, previniendo futuras reacciones en cadena.
- 3- La transformación de la vitamina E en un radical bastante estable tras ejercer su acción antioxidante.

Zingg y Azzi (2004) destacan también la capacidad de neutralizar el oxígeno molecular *singlete*, si bien con menor eficacia que en el caso de los radicales peróxido. Estos autores revisaron la diferente actividad antioxidante de los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$  del tocoferol, observando que en cuanto a reactividad con radicales peróxido el orden sería  $\alpha > \gamma > \beta > \delta$ . Mientras, con el oxígeno molecular *singlete* sería  $\alpha > \gamma > \delta > \beta$ . Yang (2003) destaca también la diferente capacidad antioxidante de los estereoisómeros del tocoferol. Las formas RRR son las únicas que se encuentran en la naturaleza y pueden frenar la oxidación con mayor eficacia que las formas sintéticas. Estas últimas suelen comercializarse como mezclas de estereoisómeros en distintas proporciones.

Sin embargo, al igual que ocurre con otras sustancias, la actividad antioxidante de la vitamina E depende de la concentración a la que se encuentre y del medio (Seppanen y col., 2010), pudiendo actuar incluso como prooxidante. Es lo que ocurre en el caso de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), donde de un modo excepcional el tocoferol puede inducir la oxidación de sus ácidos grasos insaturados (Alessi y col. 2002; Ingold y col., 1993; Neuzil y col., 1997; Upston y col., 1999). Este fenómeno se conoce con el nombre de TMP ( *$\alpha$ -Tocopherol-Mediated Peroxidation*) y se debe a que un radical que entre en la LDL puede interaccionar con el tocoferol, originando un radical tocoferoxilo. Debido a la dificultad de acceso de

otros radicales al interior de la lipoproteína, se encontrará durante un período muy largo (unos 12 segundos) sin poder reaccionar con ningún radical, para formar un producto estable. Ante esa situación, el radical tocoferoxilo, poco reactivo pero no inerte, se convierte en el único radical presente, iniciando un proceso de autooxidación.

#### **2.3.1.2.b. Otras funciones biológicas**

Algunos efectos no antioxidantes de la vitamina E son, por una parte, los mencionados por Reiter y col. (2007) en relación a la actividad antiinflamatoria y, por otra parte, los revisados por Zingg (2007). Entre estos últimos cabe destacar: mejoras frente a la aterosclerosis y otras patologías cardiovasculares, y prevención de ciertos tipos de tumores y de enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer o el Parkinson.

Por otra parte, un suplemento excesivo de vitamina E en la dieta puede resultar incluso más perjudicial que una cierta deficiencia, pues conlleva una mayor mortalidad por enfermedades cardiovasculares y degenerativas diversas (Miller III y col., 2005; Soni y col., 2010). Una vez cubiertas las necesidades fisiológicas de vitamina E, cualquier aumento progresivo en la ingestión de la misma, incrementa proporcionalmente su toxicidad.

#### **2.3.2. FORMAS DE ADICIONAR LA VITAMINA E AL ALIMENTO**

Al igual que sucedía con los ácidos grasos, la vitamina E puede añadirse al producto directamente o bien de un modo indirecto, suministrándola en la ración de los animales.

La adición directa en el alimento presenta como ventajas:

- 1- Mayor facilidad para combinar dicha vitamina con otros antioxidantes que pueden mejorar la acción de la misma al actuar de modo sinérgico. P. e., en el caso de los polifenoles y los galatos de propilo (Pazos y col., 2005).
- 2- Facilidad para controlar la dosis suministrada.



La adición indirecta permite una mayor homogeneidad en el producto y es la única posibilidad de incorporación en algunos productos cárnicos como el jamón o la cecina.

### **2.3.3. DEPOSICIÓN TISULAR DE VITAMINA E CON ESPECIAL REFERENCIA AL CERDO**

La vitamina E no puede ser sintetizada por los animales. Por tanto, la cantidad presente en sus tejidos refleja la aportada en la dieta. Debido a sus características liposolubles, la absorción de la vitamina E depende en gran medida de la capacidad del animal para digerir y/o absorber la grasa (Jensen y col., 1988a; Rigotti, 2007). El posterior transporte sanguíneo de la vitamina E es similar al de los ácidos grasos y corre a cargo de las lipoproteínas HDL y LDL principalmente y, en menor medida, de otras lipoproteínas como las VLDL (Rigotti, 2007). Varios estudios han evidenciado que la acumulación de  $\alpha$ -tocoferol depende del tipo de músculo (O'Sullivan y col., 1997; Jensen y col., 1988b; Arnold y col., 1993; Chan y col., 1996; Jensen y col., 1997). O'Sullivan y col. (1997) observaron que en cerdos alimentados a base de dietas con 160 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferilo/kg de pienso por un período de 130 días antes del sacrificio, los músculos torácicos (4,8 - 9,9 mg  $\alpha$ -tocoferol / kg tejido) y del cuello (3,7-9,2 mg / kg) contenían los mayores niveles de vitamina comparados con los músculos de la zona pélvica (4-5,6 mg/kg) y el lomo (2,5-3,5 mg / kg). Respecto al *Longissimus dorsi* y *Psoas major*, Jensen y col. (1997) observaron que en el primer músculo se fijaba menos cantidad que en el segundo. Ambos respondían de forma similar al incremento del contenido de vitamina E en la dieta, pero el músculo *Psoas major* tenía un nivel basal de  $\alpha$ -tocoferol más elevado. Estos resultados indican que la capacidad de retención de  $\alpha$ -tocoferol difiere con la particular composición de los músculos.

### **3. PRODUCCIÓN DE JAMÓN CURADO Y COCIDO**

## **3.1. DEFINICIÓN DEL PRODUCTO**

Tanto el jamón curado como el cocido son considerados productos cárnicos. Estos, según el Real Decreto 1376/2003, son “aquellos productos elaborados a partir de carne o con carne mediante un tratamiento que permita comprobar la desaparición de las características de la carne fresca en la parte central de la superficie de corte”.

### **3.1.1. JAMÓN CURADO**

El Real Decreto 1469/2007 define el jamón curado como aquel “producto elaborado con la extremidad posterior [del cerdo], cortada a nivel de la sínfisis isquiopubiana, con pata y hueso, que incluye la pieza osteomuscular íntegra, procedente de cerdos adultos, sometido al correspondiente proceso de salazón y curado-maduración”.

Aunque dicha definición se refiere al jamón Ibérico, es perfectamente extrapolable a los jamones curados no Ibéricos que se fabrican en España.

Este mismo Real Decreto menciona también el curado-maduración, considerándolo como “el tratamiento de los productos embuchados, crudo-adobados y salazones cárnicas en condiciones ambientales adecuadas para provocar, en el transcurso de una lenta y gradual reducción de la humedad, la evolución de los procesos naturales de fermentación o enzimáticos necesarios para aportar al producto cualidades organolépticas características y que garantice su estabilidad durante el proceso de comercialización”.

### **3.1.2. JAMÓN COCIDO**

La Orden Ministerial de 29 de junio de 1983 define el jamón cocido como aquel “producto que se prepara con las piezas de carne identificables correspondientes al despiece total o parcial de los miembros posteriores de cerdos aptos para el consumo, separados de la semicanal en un punto no anterior al extremo del hueso de la cadera, excluyéndose la carne triturada o picada. En los jamones

presentados enteros podrán quitarse o no los huesos, cartílagos, tendones, ligamentos sueltos, piel y grasa. En las demás presentaciones deberán quitarse los huesos, cartílagos, tendones y ligamentos sueltos. El tratamiento térmico deberá ser suficiente para lograr la coagulación de las proteínas cárnicas y su envasado asegurará que el producto se mantenga inalterado en condiciones de almacenamiento y conservación”.

## **3.2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS EN LA PRODUCCIÓN DE JAMÓN CURADO**

La siguiente exposición se ha realizado de un modo esquemático a partir de informaciones aportadas por Gázquez-Ortiz (2001); Ventanas (2006) y Bello-Gutiérrez (2008a).

### **Neolítico**

El secado de la carne, con o sin salazonado, es una actividad que se realizaba para prolongar su conservación, junto a otros métodos como el recubrimiento con grasa. De la prehistoria de la Península Ibérica corresponden algunas pinturas rupestres y ciertas esculturas donde figuran representaciones de cerdos.

### **Época prerromana**

Tanto el pueblo egipcio como el hebreo prohibieron parcialmente el consumo de cerdo, no obstante es posible que en el primer caso dicha prohibición se remitiera únicamente a ofrendas rituales. En el caso del pueblo hebreo, la prohibición fue más intensa ya que el cerdo era considerado un "animal sospechoso" al ser omnívoro, puesto que se consideraba tabú consumir animales que se alimentaran de otros.

Los antiguos griegos importaron de la cultura egipcia la sal común junto con la tecnología de la salazón y la aplicaron a la transformación de los productos derivados del cerdo. Así, en torno al siglo V a. C., el médico Hipócrates ya recomendaba el jamón para la alimentación de ciertos enfermos. También en esta época se encuentran alusiones a las bondades de dicho alimento en el dramaturgo Aristófanes y en el filósofo Platón.

Es muy probable que desde el ámbito helénico la producción de jamón se extendiera hacia la Península Itálica, más concretamente al pueblo etrusco, que ya disponía de ciertos conocimientos zootécnicos. En diversos yacimientos se ha observado que faltaban las extremidades posteriores de muchos de los cerdos que criaban. Tales

hallazgos hacen pensar en un abundante consumo de perniles en forma de jamones curados.

Las culturas Celta e Íbera destacaron por sus manifestaciones artísticas totémicas de cerdos y de toros respectivamente. Además, elaboraban jamones muy codiciados en Roma, tal y como reflejó Estrabón en *Geographyka*. En ella comenta la exquisitez de los jamones cerretanos (de origen íbero), comparable a la de los cantábricos (de origen celta).

## Imperio Romano

Es en esta época cuando el jamón curado adquiere una gran importancia internacional, estando quizás a la cabeza el procedente de Hispania, como se expuso en la obra anónima *Expositio Totius Mundi et Pentium* y en el mencionado texto de Estrabón. Este historiador también informó de la cría de cerdos en la Península Itálica para el abastecimiento del ejército romano.

Roma importaba jamones de sus provincias, fundamentalmente de la Galia, Hispania (jamones cerretanos, cantábricos, gaditanos y pamploneses, entre otros) y Cerdeña. La relevancia de este producto se manifiesta por:

- El empleo de monedas en forma de pernil durante el gobierno de los emperadores Augusto y Agripa.
- La aparición de la primera alusión escrita a un proceso de elaboración de jamón curado y a un tratamiento frente a artrópodos, por Marco Porcio Catón en *De Re Rustica*.
- La inclusión del jamón curado en el Edicto de Precios de los Productos de Mercado, durante el mandato del emperador Diocleciano.

El jamón, al igual que el tocino, se obtenía tras un proceso de secado, salazonado y ahumado, junto con la aplicación de aceite de oliva y un baño en vinagre. Una vez terminada la elaboración, se consumía después de ser hervido.

Dentro del Imperio, el consumo de jamón abarcaba a casi todas las clases sociales, incluso a los libertos.

## Edad Media

La producción de jamón en España fue poco uniforme. Por una parte, existían factores adversos (incursiones de vándalos, suevos y alanos; e invasión musulmana) y, por otra, factores que la propiciaron (Reconquista; Camino de Santiago).

En los años en que la producción de jamón era factible, el campesinado obtenía jamones dentro de una economía de subsistencia. En cambio, la Iglesia destinaba parte de su producción al autoconsumo y parte a la comercialización de excedentes. El autoconsumo se daba en la mayor parte de los monasterios, mientras que la comercialización se hizo patente sobre todo en las órdenes religioso-militares.

A finales de la Edad Media surgieron en Italia y Provenza los primeros charcuteros, los *salumerii*. También en esta época aparece un jamón típico de Alsacia denominado *Schnitz*, que realmente era una conserva a base de jamón y peras.

## Antigua China

Paralelamente a la Edad Media europea, en China la dinastía Song (960-1279 d. C.) ya producía jamones curados aunque la tecnología aplicada fue guardada con gran secreto.

## Renacimiento

Durante esta época adquiere gran fama el jamón Ibérico, al alcance de las clases económicamente más favorecidas y que solo en contadas ocasiones podía ser consumido por el campesinado.

El jamón curado, al igual que los cerdos de los que deriva, llegaron por primera vez a América gracias al segundo viaje de Cristóbal Colón. La cría de cerdos se extendería rápidamente por todas las islas caribeñas, Méjico, Panamá, Colombia, etc., siendo un factor importante para el desarrollo de sus ciudades.

Igualmente, puede señalarse la promulgación por Carlos I de diversas leyes dirigidas a la protección de las dehesas peninsulares en las que se incluían instrucciones para que las matanzas de cerdos fueran llevadas a cabo de modo correcto. Tampoco faltan referencias

en la literatura castellana al jamón español, como puede apreciarse en algunos escritos del Arcipreste de Hita.

Por otra parte, en Italia los médicos recomendaban el consumo de jamón curado, al considerarlo un alimento saludable.

## **Siglos XVII – XVIII**

El jamón adquiere un mayor protagonismo entre el pueblo llano rural, si bien aún pervive como alimento de reconocido valor entre la realeza. Existen evidencias escritas de su consumo por Felipe V, Fernando VI y Carlos IV. En el siglo XVII (y en parte a finales del XVI) son muchos los escritores que recogen testimonio de este producto: Cervantes, Lope de Vega, Tirso de Molina, Góngora, etc.

Por otra parte, a finales del siglo XVIII se exportaron gran cantidad de jamones desde España a diversos países de América y Europa, lo cual contribuyó significativamente a su difusión internacional.

## **Siglo XIX**

Los productos del cerdo siguen predominando en el medio rural, pero es a partir de esta época cuando se consolida su consumo entre la clase media urbana. El reconocimiento mundial del jamón se hace patente en las exposiciones universales de París, Viena y Filadelfia, donde obtuvo importantes medallas.

## **Siglos XX - XXI**

En Los últimos años del siglo XX y primeros del XXI han aparecido en España distintas menciones de calidad que establecen criterios objetivos para el reconocimiento oficial de la calidad del jamón curado:

1. Denominaciones de Origen Protegidas: DOP Jamón de Teruel, DOP Jamón de Huelva, DOP Jamón de Guijuelo, DOP Jamón de los Pedroches y DOP Jamón de la Dehesa de Extremadura.
2. Indicación Geográfica Protegida Jamón de Trevélez.
3. Especialidad Tradicional Garantizada Jamón Serrano.



### **3.3. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN CURADO**

El grueso de la información de este apartado procede de Ventanas (2001). El resto de la misma ha sido obtenido de otros autores que quedarán debidamente referenciados en el texto.

#### **3.3.1. OBTENCIÓN DEL PERNIL**

El pernil se extrae separando el miembro pelviano de la canal. En algunas zonas de España se corta parte del hueso isquio-pubiano, eliminándose el saliente que presenta el pernil en su cara interna. En algunos jamones españoles es frecuente quitar la pezuña. Posteriormente se procede al perfilado, para darle una forma determinada al pernil, siendo típico de algunos jamones Ibéricos y de los Serranos dejar parte de la piel con el característico corte en "V". A la maza del jamón Ibérico y del Serrano se le suele dar una forma acuminada, llamada "alimonado". Después, el pernil se somete a un proceso de sangrado por presión, ya sea manual o automática, empleando sistemas de rodillos. Con ello se extraen restos de sangre que no se eliminaron en el sacrificio.

#### **3.3.2. TRANSFORMACIÓN DEL PERNIL EN JAMÓN**

Transcurre en cuatro fases consecutivas donde se darán las condiciones necesarias para configurar las características del producto final.

##### **3.3.2.1. Salazonado o salazón**

Consiste en someter el jamón a la acción de la sal común con, o sin, la presencia de sales nitrificantes. Con ello se pretende estabilizarlo microbiológica y enzimáticamente al favorecer su deshidratación, al tiempo que se potencia el sabor. Lo ideal es trabajar a temperatura de refrigeración y con una humedad relativa del 90%, dejando la pieza en sal 1 día por cada kg de peso. No obstante, esta recomendación depende de factores como: la

temperatura a la que se practique el salazonado, el tipo de animal y el tipo de jamón que se pretenda obtener. El porcentaje final de sal en el jamón variará según el tipo considerado (tabla I.5.).

Actualmente, se recomienda reducir la sal en la alimentación debido a su efecto hipertensor. En consecuencia, se está investigando en disminuir el contenido en cloruro sódico del jamón, sustituyéndolo -en parte- por otros cloruros como el de potasio, el de calcio o el de magnesio (Alino y col., 2010).

### **3.3.2.1.a. Procedimientos de salazonado**

#### **A. Salazón por apilación tradicional**

Consiste en amontonar los perniles unos encima de otros de un modo ordenado. Previamente se clasifican según su pH, contenido graso, insaturación lipídica, peso, etc. para establecer cuáles quedarán en las posiciones superiores o inferiores de la pila. A continuación se realiza una aplicación de sal por frotamiento y se disponen los perniles en pilas, alternándolos con capas de sal.

#### **B. Salazón por apilación en contenedores**

Es similar a la apilación tradicional pero con las piezas incluidas en contenedores. Al igual que el sistema anterior, requiere de una previa clasificación y aplicación de sal por frotamiento. Sin embargo, presenta la ventaja de que es más higiénico y ocupa menos espacio. Su principal inconveniente es que requiere una elevada inversión inicial.

#### **C. Salazón por aporte limitado de sal**

Se trata de un sistema empleado en el jamón de Parma y otras variedades, que consiste en la aplicación de sal húmeda por frotamiento y posterior aplicación de sal gruesa en la parte magra por presión y en etapas sucesivas. Con este método se consigue un ahorro considerable de sal y más precisión en el control del proceso. Tiene como inconveniente más importante el requerir una mayor mano de obra que los otros sistemas (Vestergaard y col., 2005).

## **D. Salazón por salmuera**

Es un método más reciente que los anteriores cuya principal ventaja es la rápida penetración de la sal, lo que acorta las fases de salazonado y postsalado. Sin embargo, requiere un secado más prolongado, o auxiliado con determinadas técnicas como el vacío (Chiralt y col., 2001; Vukovic y Klettner, 2003a,b; Gou y col., 2003; Barat y col., 2004, 2005).

### **3.3.2.1.b. Efectos del salazonado**

#### **A. Efectos debidos a las sales de curado (nitritos y nitratos)**

Los nitritos (E-249, E-250) y los nitratos (E-251, E-252) constituyen unos de los principales aditivos alimentarios a nivel mundial, siendo de gran interés en los productos cárnicos. Los principales efectos de las sales de curado en el jamón son (Toldrá y col., 2009):

- Liberación lenta de nitritos en el producto, debida a que los nitratos se transforman progresivamente en nitritos.
- Retraso del crecimiento microbiano. Es un efecto de los nitritos que adquiere gran importancia en el control de bacterias esporuladas como el *Clostridium botulinum*.
- Formación de nitrosomioglobina a partir de los nitritos. Dicha proteína es el pigmento responsable del color típico de los productos curados con estos aditivos.
- Acción antioxidante. A día de hoy, se han propuesto cuatro mecanismos diferentes por los que los nitritos pueden ejercer su actividad antioxidante:
  1. Reaccionando con pigmentos hemo para formar compuestos estables.
  2. Actuando en las membranas celulares para estabilizar los lípidos insaturados.
  3. Ejerciendo una acción quelante sobre los metales.
  4. Formando compuestos nitrogenados que actúan frente a los radicales libres.

No obstante, algunos investigadores opinan que, si bien existe dicha actividad, no es tan elevada como se presupone. Esta afirmación se sustenta en la detección de cantidades relevantes de compuestos nitrosados que podrían tener origen oxidativo (Ruiz, 1996).

- Participación en el aroma a curado. Aunque el mecanismo no está claro, es posible que tenga que ver con la actividad antioxidante al evitar ésta la formación de ciertos volátiles.

## **B. Efectos debidos a la sal común**

- Pérdida de agua. A medida que la sal ingresa en el pernil, se produce la difusión de agua desde el interior al exterior de la pieza (Gou y col., 2004; Gou y col., 2003), lo que conlleva una reducción de la  $a_w$  que estabiliza el producto, sobre todo desde una perspectiva microbiológica (Hsiang y col., 2002; Portocarrero y col., 2002; Reynolds y col., 2001).
- Aumento de la sapidez. La sal es el principal agente saborizante del jamón, pero no el único pues algunos aminoácidos y nucleótidos también aportan sabor salado (Careri y col., 1993).
- Aumento de la oxidación. El cloruro sódico es uno de los agentes más prooxidantes en el jamón curado (Vestergaard y Parolari, 1999; Andrés y col., 2004). Hay que considerar que la oxidación lipídica juega un papel determinante en el desarrollo del aroma característico del producto.
- Modificaciones en la actividad enzimática. En el jamón existen numerosas fosfo- y triacilglicerol lipasas, destacando por su actividad la lipasa neutra (Gandemer, 2002). Los efectos del cloruro sódico sobre dichas enzimas no han sido dilucidados: algunos autores han encontrado cierta inhibición tanto de unas como de otras lipasas (Andrés y col., 2005; Vestergaard y col., 2000). Sin embargo, existen investigaciones que no han apreciado efecto alguno (Coutron-Gambotti y col., 1999) o bien éste ha sido escaso, según hallaron Rui-Qi y col. (2009) trabajando con jamón Jinhua.

A diferencia de lo que ocurre con las lipasas, la sal común sí tiene una actuación clara y selectiva sobre las proteasas y

peptidasas endógenas del pernil (Virgili y Schivazappa, 2002; Schivazappa y col., 2002). La acción inhibidora es bastante fuerte sobre la aminopeptidasa PS ("aminopeptidasa sensible a puromicina"). En el caso de las calpaínas, de localización lisosómica, la inhibición es casi completa (Gil y col., 1999). Sobre las catepsinas B y L ejerce una inhibición inferior pero no despreciable. Ambas son enzimas lisosómicas importantes en la proteólisis muscular, siendo la catepsina B más activa en los fenómenos proteolíticos que acontecen en el jamón. En cambio, la activación de la aminopeptidasa B aumenta según lo hace la concentración salina. Esta enzima se localiza en el citosol celular y produce la liberación específica de residuos arginina y lisina. La acción general de la sal sobre las proteasas y peptidasas del jamón curado es inhibidora (Ruiz-Ramírez y col., 2005a), lo cual resulta positivo, pues una proteólisis excesiva puede afectar negativamente la textura y el sabor. En estos casos el producto final resulta blando-pastoso (García-Garrido y col., 1999; Ruíz-Ramírez y col., 2005a) y ligeramente amargo. Dicho sabor viene dado por numerosos oligopéptidos y por los aminoácidos de cadena lipofílica (Sforza y col., 2001).

El exceso de actividad proteolítica es un problema a tener en cuenta en los jamones con contenido reducido en sal, ya que se producen los mencionados efectos no deseados. Costa-Corredor y col. (2009), trabajando con jamones curados reestructurados, han conseguido mitigar estos efectos adicionando lactato potásico en sustitución parcial del NaCl.

A pesar de todo, existen autores que, en el caso del jamón Ibérico, no han observado un efecto importante del cloruro sódico sobre la proteólisis (Martín y col., 1998a).

- Formación del gel cárnico. El cloruro sódico aumenta la fuerza iónica del medio. Debido a ello, se incrementa la solubilidad de las proteínas miofibrilares del jamón, lo cual facilita su desnaturalización parcial y la posterior formación de un gel cárnico.

**Tabla 1.5. Contenidos salinos típicos en músculos internos de diferentes tipos de jamón curado** (adaptación de Ventanas, 2001).

<b>Tipo de jamón</b>	<b>% sal en peso fresco</b>	<b>% sal en extracto seco</b>
<b>Ibérico</b>	3,10-6,40	6,36-12,09
<b>Curado de cerdo blanco</b>	8,60	17,67
<b>Parma</b>	5,97	15,75
<b>St. Danielle</b>	6,48	16,20
<b>Veneto</b>	5,99	15,59
<b>Bayona</b>	6,90	17,29
<b>Corso</b>	10,30	18,10

### 3.3.2.2. Lavado y moldeado

Cuando el jamón ha superado el tiempo de salazonado, se procede al lavado con agua caliente y cepillos para retirar el exceso de sal. El agua se elimina manteniendo el jamón en cámaras a elevada temperatura, en un procedimiento que se denomina "escurrido". Después, se mejora la forma de la pieza golpeándola con mazas. Ésta operación es opcional, siendo relevante sólo en los jamones de mayor calidad.

### 3.3.2.3. Postsalado

Durante el salazonado, las sales se concentran sobre todo en la parte superficial, por lo que se requiere una fase de postsalado en la que se producirá una distribución más homogénea de las mismas. Tradicionalmente dura entre 30 y 80 días, con humedad relativa del 80-95% y temperatura en torno a 0-7 °C (Rodríguez-Rebollo, 1998a)

aunque puede hacerse a una menor humedad (75-85%) para evitar el remelo sin perjudicar la difusión de las sales (Arnau y col., 2003). La fase de postsalado conlleva un grado de proteolisis inicial nada despreciable, sobre todo en los músculos más profundos y con mayor contenido graso. Según se equilibra la concentración del cloruro sódico, y éste accede a las zonas más profundas, se reduce la proteolisis (Ventanas y col., 1989).

### **3.3.2.4. Secado-maduración**

#### **3.3.2.4.a. Generalidades del secado y la maduración**

Es en esta fase donde finaliza la configuración del producto, dándole el aroma, sabor y textura característicos (Bello-Gutiérrez, 2008b). La duración de dicha operación y los parámetros de humedad relativa y temperatura son variables, dependiendo del tipo de jamón, la calidad que se pretenda alcanzar, las combinaciones de parámetros, etc. En la tabla I.6. se muestran algunos parámetros a controlar y sus valores orientativos.

Si la elaboración es tradicional, el secado propiamente dicho suele transcurrir en secaderos naturales, aprovechándose el mismo lugar tanto para el postsalado como para el secado. En cambio, la maduración acontece en bodegas naturales. En ambos casos, el progreso de las reacciones depende en gran medida de las condiciones climáticas ambientales (Rodríguez-Rebollo (1998a); Martín y col., 1998a). Si la elaboración es industrial, el secado y la maduración transcurren en cámaras debidamente acondicionadas y controladas.

**Tabla I.6. Parámetros a controlar durante la fase de secado-maduración**, adaptada de Rodríguez-Rebollo (1998a) y Ventanas (2001).

<b>Fase</b>	<b>Tiempo (días)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Humedad relativa (%)</b>
1ª fase de secado	50-60	6-16	75-85
2º fase de secado	40-180	16-25	75-85
Secado final o estufaje	25-180	25-35	60-75
Maduración o añejado	80-1200	12-20	50-80

### **3.3.2.4.b. Principales fenómenos físicos, químicos y microbianos que acontecen durante el secado y la maduración**

#### **A. Exudación lipídica**

Se debe a que gran parte de los PUFAs del pernil se funden por la temperatura relativamente elevada que se alcanza durante esta fase.

#### **B. Deshidratación**

El control de la deshidratación constituye uno de los puntos clave en la elaboración del jamón curado, siendo determinante en la estabilización del mismo al reducir la  $a_w$  (Arnau y Gou, 2001). La deshidratación del jamón viene regulada por la humedad relativa, la temperatura y la sal. Estos factores son los que gobiernan la difusión del agua en el producto, llegándose a potenciar sus efectos al combinarlos adecuadamente (Gou y col., 2003). Sin embargo, cuando



la  $a_w$  es inferior a 0,75, el cloruro sódico del jamón alcanza su punto de saturación y tiende a cristalizar, por lo que su capacidad de absorber moléculas de agua es escasa o nula (Comaposada y col. 2000). La difusión del agua influye notablemente en la textura del producto final. Así, una deshidratación muy intensa conduce a la formación de una corteza superficial demasiado dura y de estructura muy porosa. En cambio, si la deshidratación es muy ligera, se obtiene un jamón de textura blanda desagradable (Parolari, 1996; Virgili y col., 1995; Serra y col., 2005; Arnau y Gou, 2001), debido a una excesiva proteolisis (Ruíz-Ramírez y col., 2005b).

La deshidratación del jamón comienza en la fase de salazonado y continúa durante el secado y maduración. Su desarrollo no solo depende de la sal y la presión, durante el salazonado, y por la humedad relativa y temperatura, en fases posteriores, sino también de la calidad de la carne. Así pues, ante condiciones de procesamiento similares, los perniles de pH más elevado se deshidratarán con más dificultad que los de pH inferior (Serra y col., 2005; Guerrero y col., 1999).

### **C. Actuación microbiana**

En general, la actividad microbiana en el jamón es poco destacable ya que las bajas temperaturas durante el salazonado y su reducida  $a_w$  en las fases posteriores frenan el desarrollo de la mayor parte de la microbiota inicial y de la práctica totalidad de los patógenos (Rodríguez y col., 1994). El único crecimiento destacable es el de ciertas bacterias halotolerantes (Rastelli y col., 2005; Rodríguez y col., 1994) y, sobre todo, el de levaduras y mohos. Estos dos últimos, ejercen una proteolisis considerable en la superficie del producto (Arnau y col., 2003; Martín y col., 2004). Además, según Martín y col. (2006), los hongos promueven una contribución no despreciable a la formación de compuestos volátiles. La población mayoritaria de mohos en el jamón curado corresponde a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurothium*, aislándose con menor frecuencia especies de los géneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aurobasidium*, *Curvularia*, *Paecylomyces*, *Syncephalastrum* y *Trichoderma* (Núñez y col., 1996; Martín y col., 2004).

#### **D. Reacción de Maillard y degradación de Strecker**

Una fuente relevante de compuestos responsables del sabor y aroma del jamón es la reacción de Maillard. En realidad se trata de un conjunto de reacciones que acaecen entre aminoácidos y grupos reductores, como azúcares y otros compuestos carbonílicos, sobre todo los resultantes de la oxidación lipídica, que son los principales participantes en el caso del jamón curado.

La degradación de Strecker consiste en la desaminación oxidativa y descarboxilación de un aminoácido en presencia de un compuesto dicarboxílico, formándose un aldehído con un carbono menos que el aminoácido de procedencia. Existen numerosos aldehídos cíclicos, ramificados y azufrados, así como sus alcoholes homólogos, cuya vía de formación más probable es la degradación de Strecker (García y col., 1991). Algunos aldehídos, importantes para el sabor y aroma, que se generan en la degradación de Strecker son el 2-metilpropanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 2-feniletanal, etanal y metanal.

Como afirman Jurado y col. (2009), ambas reacciones resultan de crucial importancia en la generación de compuestos volátiles durante la maduración del jamón curado. Tales sustancias aumentan de manera progresiva hasta el final de la elaboración del producto.

#### **E. Actuación de enzimas endógenas**

- **Fenómenos lipolíticos**

Las lipasas actúan durante todo el proceso de elaboración del jamón, aunque la lipólisis no es igual de intensa en las distintas fases. Se debe considerar que no todas las lipasas actúan en la misma medida (Gandemer, 2002). La lipasa neutra es la que presenta mayor actividad (Zhou y Zhao, 2007) y prácticamente la única triacilglicerol-lipasa relevante al final de la maduración de los jamones curados tradicionales (Cava y col., 2004). Esta enzima hidroliza los triglicéridos en las posiciones 1 y 3, liberando los correspondientes ácidos grasos (Toldrá, 2006). En estos momentos de la maduración, la actividad de otras triacilglicerol-lipasas, como la ácida o la lipoproteín-lipasa, es bastante inferior. También es destacable la acción de las lisofosfolipasas, las cuales liberan ácidos grasos de los fosfolípidos que, al ser más

insaturados, suponen una buena fuente de material oxidable (Toldrá, 2006). Así pues, las lipasas contribuyen de un modo indirecto en el sabor y el aroma del producto terminado.

En el jamón curado, la lipólisis afecta tanto a la fracción de triglicéridos como a la de fosfolípidos. Los análisis de fracciones de ácidos grasos libres sugieren que durante la maduración la actividad lipolítica es más intensa sobre los fosfolípidos que sobre los triglicéridos (Gandemer, 2002), aunque la acción sobre estos últimos no puede considerarse despreciable (Andrés y col., 2005).

Por otra parte cabe destacar que, a día de hoy, apenas se conocen los factores que gobiernan el comportamiento de las lipasas en el jamón curado (Gandemer, 2009).

- **Fenómenos proteolíticos**

Las principales proteasas que actúan sobre el jamón son de origen endógeno, se trata de: catepsinas, dipeptidilpeptidasas y aminopeptidasas (Zhou y Zhao, 2007; Toldrá, 2006; Mora y col., 2009). Todas ellas se ven afectadas por variables presentes durante el curado, el secado y la maduración, entre las que destacan: la temperatura, el contenido en sal y el pH.

Durante las fases de secado y maduración, el principal agente promotor de fenómenos proteolíticos es la temperatura, de tal forma que cuanto mayor sea ésta, más cantidad de aminoácidos y péptidos se liberarán (Martín y col., 1998a,b). No obstante, ciertos investigadores que estudiaron la actividad de las catepsinas en el jamón de Parma, no han observado un efecto significativo de la temperatura sobre la proteólisis. En cambio, sí que han constatado una influencia positiva importante del contenido muscular de catepsinas (Sforza y col., 2001). Ciertas investigaciones han puesto de manifiesto que éste es superior en el jamón de cerdo blanco que en el Ibérico (Rossel y Toldrá, 1998), posiblemente como consecuencia del sacrificio de animales más jóvenes en el primer caso (Sárraga y col., 1993). Además, dentro de las razas (o variedades) de cerdo Ibérico también se han encontrado diferencias en cuanto a niveles de catepsinas y

grado de proteólisis (Cava y col., 2004), lo cual no descarta una implicación genética al respecto.

Dentro de las fracciones nitrogenadas no proteicas que se producen en el jamón durante el proceso de elaboración, la más destacable implica al nitrógeno aminoacídico. Ésta sufre un aumento drástico cuando empieza a aumentar la temperatura de procesado (en el secado) y continúa dicho incremento hasta el final del proceso. El nitrógeno peptídico sin embargo, empieza a disminuir al comienzo de la fase de maduración, donde el aumento de la temperatura y la desecación favorecen la conversión de péptidos en aminoácidos libres. En el caso de los jamones de contenido en sal reducido, no se produce una disminución tan radical, quizás porque las proteasas no se ven inhibidas por el cloruro sódico. La explicación a este fenómeno está en que las proteasas no inhibidas liberan más nitrógeno peptídico a partir de las proteínas, con lo que la transformación de dicho nitrógeno peptídico a aminoácidos no parece tan pronunciada. El nitrógeno básico volátil es muy poco abundante en el jamón curado y sólo experimenta un ligero aumento en consonancia con la temperatura.

## **F. Oxidación lipídica**

La oxidación lipídica que ocurre durante la maduración del jamón está favorecida por diversos factores (Vestergaard y Parolari, 1999). Entre ellos destacan el salazonado, la deshidratación, la exposición al oxígeno y a la temperatura ambiente, la ausencia de sales de curado (en determinados jamones como el de Parma), etc. Con respecto al contenido en sal, cabe mencionar que algunos autores no han observado un efecto pro-oxidante destacado (Andrés y col., 2004; Coutron-Gambotti y col., 1999). Por su parte, otros opinan que el principal agente oxidante (o uno de los principales) en el jamón curado son las lipasas endógenas (Muriel y col., 2005), ya que liberan ácidos grasos que constituyen un buen sustrato para la oxidación. A este respecto, cabe señalar que los ácidos grasos procedentes de los fosfolípidos son más importantes que los de los triglicéridos de cara a la oxidación, ya que su grado de insaturación es superior (Gandemer, 2009). Ahora bien, como señala Gandemer (2009), no podemos

olvidar la existencia de investigadores que no han apreciado esta relación entre lipólisis y posterior oxidación de los ácidos grasos liberados.

La oxidación no se produce de un modo homogéneo pues las piezas presentan una baja relación superficie / volumen, lo que implica que los fenómenos oxidativos se limiten sobre todo a las partes más superficiales, principalmente a la grasa subcutánea. Dicha situación se debe a que en las zonas más profundas apenas llega el oxígeno del aire, por lo que existe un potencial REDOX bastante más bajo (Vestergaard y Parolari, 1999).

Las reacciones de oxidación dan lugar a numerosos compuestos volátiles responsables del aroma y sabor del jamón. Entre estas sustancias destacan alcoholes (hexanol, octanol, etc.), aldehídos, cetonas (Sánchez-Peña y col., 2005; Jurado y col., 2009), etc. De hecho, según la oxidación es responsable de generar la mayor parte de los volátiles detectados en dicho producto.

### **3.4. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL JAMÓN COCIDO**

Como se mencionó anteriormente (apartado 3.1.2.), el jamón cocido se prepara con las piezas de carne identificables obtenidas a partir del despiece total o parcial de los miembros posteriores de cerdos aptos para el consumo (Orden Ministerial de 29 de junio de 1983). De ello se desprende que puede proceder de una misma extremidad posterior, o de ambas, ya sean, o no, del mismo animal.

La obtención del pernil suele ser parecida a las del jamón curado de cerdo blanco.

Para escribir los siguientes apartados del proceso de fabricación se ha extraído información, sobre todo, de Ordóñez y col. (1998b) y de Rodríguez-Rebollo (1998b). El resto de la información procede de otros autores que figurarán debidamente reseñados en el texto.

#### **3.4.1. CLASIFICACIÓN DE LA MATERIA PRIMA**

La selección se basa en el estudio de ciertos parámetros que determinarán si las piezas son aptas, o no, para su transformación, o si será necesaria alguna variación con respecto al sistema de fabricación propio de la industria. Los principales parámetros a considerar son:

##### **3.4.1.1. Peso**

Es un factor importante cuando se pretende elaborar un jamón cocido a partir de un pernil entero. Si éste va ser despiezado, el peso no es un factor relevante.

##### **3.4.1.2. Espesor de la grasa de cobertura**

Es importante conocerlo para saber el tipo de jamón que se va a elaborar. Generalmente se establecen tres grosores: inferior a 15 mm, de 15 a 25 mm y superior a 25 mm, no debiendo superarse los 20 mm en los jamones magros y extramagros.

### **3.4.1.3. pH a las 24 horas post-sacrificio**

En ningún caso debe ser superior a 6,2, pues existe el riesgo de que aparezcan carnes DFD, que son susceptibles de contaminación microbiana. El límite inferior es de 5,5, nivel bajo el cual es muy probable la presencia de un defecto tipo PSE.

Se suelen establecer cuatro categorías de jamones en función de la medición del pH en el músculo *Semimembranosus*:

Jamones con pH < 5,5 (defecto PSE)

Jamones con pH comprendido entre 5,5 – 5,8

Jamones con pH comprendido entre 5,8 – 6,2

Jamones con pH > 6,2 (defecto DFD)

En la elección de la materia prima, lo ideal es que el pH se sitúe en torno a 5,8 pues con este valor se consigue una capacidad de retención de agua (CRA) apropiada. La determinación del pH debe hacerse en el interior de la pieza y, al menos, en tres sitios diferentes.

### **3.4.1.4. Otras determinaciones**

Los valores de impedancia eléctrica y de color obtenidos en el músculo *Semimembranosus* también contribuyen a determinar la calidad de la materia prima, al poner de manifiesto carnes DFD y PSE. En la determinación colorimétrica se suele emplear el sistema Lab, en el cual el valor más significativo es el del parámetro L (luminosidad), que es inferior a 52 en las carnes DFD y superior a 58 en las PSE.

### **3.4.2. DESHUESADO Y DESPIECE**

La extracción de los huesos del jamón cocido es una práctica habitual en España. No ocurre lo mismo con el jamón de York genuino o con el jamón de Praga, donde la norma general es el consumo de productos elaborados a partir de la extremidad no deshuesada. El deshuesado se realiza de forma mecánica. Tras el mismo se procede al despiece de las masas musculares, lo que conlleva eliminar el exceso de grasa de cobertura, cartílagos, tendones, ganglios

linfáticos y ligamentos que podrían perjudicar la formación del gel cárnico y, en consecuencia, la cohesión y la textura del producto final. A ello hay que añadir que se reduciría la homogeneidad de las diferentes piezas.

A menudo, esta operación “de limpieza” se acompaña de otra que consiste en realizar cortes en el tejido conjuntivo que cubre cada músculo para favorecer la salida de la proteína muscular y su posterior gelificación.

### **3.4.3. SALAZÓN O SALAZONADO**

#### **3.4.3.1. Métodos de salazón**

Actualmente destacan dos tendencias en la salazón del jamón cocido:

##### **3.4.3.1.a. Salazón húmeda**

Realizada casi siempre por sistemas de inyección con multiaguja, lo cual permite fabricar un elevado número de jamones al día con características bastante uniformes. Las máquinas empleadas generalmente disponen de dos tipos de agujas:

- Inyectoras, que introducen la salmuera en el producto. Suelen trabajar a una presión en torno a 200 kPa, suficiente para que entren con fuerza y no se produzca un desgarro en el tejido.
- Ablandadoras, que presentan un mayor diámetro y facilitan la repartición de la salmuera.

##### **3.4.3.1.b. Salazón “más seca”**

Denominada así para diferenciarla de la empleada en los jamones curados. Se realiza durante el malaxado, aportando los elementos de la salmuera en polvo y añadiendo cierta cantidad de agua para facilitar la disolución y penetración de las sales.

A día de hoy, es más frecuente el empleo de la salazón húmeda que el de la salazón “más seca”, ya que es más rápida y consigue una mayor homogeneidad de las piezas.



### **3.4.3.2. Importancia de los polifosfatos**

Los principales ingredientes en la salazón del jamón cocido, además del cloruro sódico y de los nitritos y nitratos, son los polifosfatos (E-452) (Palacios, 2003). La razón fundamental de su empleo es el aumento de la CRA, reduciendo así las mermas que se originan durante el procesamiento. Los polifosfatos consiguen esta CRA superior ejerciendo tres efectos:

1. Aumento de la extracción proteica al elevar la fuerza iónica del medio.
2. Disolución del complejo actina-miosina.
3. Estabilización del gel cárnico, lo que permite, además, una mejor fijación de la emulsión del producto, lo cual adquiere una superior relevancia en los productos de pasta fina.

A nivel mundial, la adición de fosfatos está regulada (Versluys y col., 1996), siendo la cantidad máxima permitida en España de 7.500 mg/kg, según estipula la Norma de Calidad para el jamón cocido y sus posteriores modificaciones (Orden Ministerial de 29 de junio de 1983). La problemática en la adición de polifosfatos ha llevado a la búsqueda de otros emulgentes y ligantes, como ciertas proteínas de origen vegetal (Versluys y col., 1996), carragenatos (Motzer y col., 1998), colágeno (Prabhu y col., 2004), almidones modificados (Motzer y col., 1998), etc.

### **3.4.4. REPOSO EN CUBAS DE INMERSIÓN**

Solo es necesario cuando se emplea la extremidad del cerdo entera con el fin de elaborar un jamón polifosfatado. Ello se consigue manteniéndolo unos 3-5 días en salmuera.

### **3.4.5. TRATAMIENTO MECÁNICO**

#### **3.4.5.1. Propósito del tratamiento mecánico**

Su función es producir una mayor degradación de las membranas celulares de las piezas (Katsaras y Budras, 1993), con la finalidad de:

1. Conseguir una mejor y más rápida distribución de los componentes de la salazón logrando, entre otras cosas, una coloración más homogénea.
2. Facilitar la inclusión en moldes al ablandar la carne.
3. Mejorar la cohesión de las piezas después de la cocción, ya que al romperse las fibras musculares, se favorece la extracción de las proteínas miofibrilares.

#### **3.4.5.2. Métodos de tratamiento mecánico**

El tratamiento mecánico se puede realizar:

- Mediante golpeteo con tambores rotatorios (malaxado), en los que la carne gira a la vez que es objeto de un intenso tratamiento mecánico a cargo de paletas, chicanas y láminas directrices. Estas máquinas permiten trabajar con aire, atmósferas modificadas o vacío.
- Mediante un amasado o frotado, que es un tratamiento mecánico menos intenso en el que la carne es movida por brazos o palas agitadoras que giran en torno a un eje vertical, de manera que no tienen lugar movimientos de caída –como en el caso anterior- sino únicamente un frotamiento muscular.

En cualquiera de los dos casos, el tratamiento mecánico se realiza a intervalos, intercalando fases de reposo ("resquemado") para favorecer la rotura de las fibras. La duración total de dicho tratamiento es de unas cuatro horas. Es también muy efectivo el empleo de ultrasonidos aunque no está muy desarrollado en la industria por necesitar instalaciones complejas y costosas.

#### **3.4.6. REPOSO EN CUBAS**

Es una operación cuya necesidad no es compartida por todos los fabricantes. Posiblemente sólo resulte efectiva cuando el tratamiento mecánico ha resultado muy ligero.

### **3.4.7. MOLDEADO**

Consiste en introducir las piezas en moldes para que adquieran una forma más atrayente de cara al consumidor y/o permitan una mejor funcionalidad de cara al transporte u otras operaciones en las que facilitarán el manejo. Se lleva a cabo en moldes, existiendo en el mercado una gran variedad de materiales para su fabricación. Por lo general, se emplean moldes más rígidos para aquellos jamones fabricados a partir de una extremidad entera.

Unos moldes muy frecuentes en el mercado son los fabricados con acero inoxidable y forrados con plástico, los cuales soportan bien el posterior tratamiento térmico de cocción.

### **3.4.8. RELLENADO**

Permite un mejor tratamiento posterior de la pieza y una presentación comercial más aceptable al introducir porciones de jamón en los huecos que puedan haber quedado en el contenido del molde.

### **3.4.9. DESGASEADO**

Se eliminan las burbujas de aire que puedan haber quedado en el “limo del malaxado”, lo cual mejora la calidad del producto final.

### **3.4.10. PRENSADO**

Permite mejorar la presentación al reforzar la acción del moldeado. Se trata de una operación prescindible en aquellos jamones envasados a vacío, pues la presión negativa del mismo ya garantiza una forma adecuada.

### **3.4.11. MADURACIÓN**

Se realiza en algunas ocasiones para mejorar la calidad del producto final. Tiene lugar en saco de cocción o en molde.

### **3.4.12. COCCIÓN**

#### **3.4.12.1. Efectos de la cocción**

La cocción es una de las operaciones más importantes del proceso pues tiene una serie de efectos tecnológicos e higienizantes:

1. Ligazón de la masa mediante la coagulación de las proteínas, estableciéndose un gel cárnico que favorece la aparición de la textura deseada.
2. Desarrollo de las características sensoriales propias del jamón cocido: sabor, aroma, textura y color.
3. Inactivación de las enzimas cárnicas (lipasas y proteasas, fundamentalmente) que pudieran causar alteraciones posteriores en el producto.
4. Prolongar la vida útil, al destruir las formas vegetativas de los microorganismos, ya que se emplean valores de tiempo y temperatura típicos de una pasterización.

La ligazón de las masas musculares es diferente según el jamón haya sido sometido a malaxado y polifosfatado, o no. En el primer caso la unión se debe a la coagulación de la miosina y actomiosina fundamentalmente, mientras que en el segundo caso la cohesión se establece por la coagulación del colágeno. Ello implica utilizar distintas temperaturas de cocción, pues la coagulación de la miosina y actomiosina es más favorable a temperaturas en torno a 65° C. En cambio la del colágeno es superior si la temperatura ronda los 80° C.

#### **3.4.12.2. Procedimiento de la cocción**

El tratamiento térmico de cocción se realiza en baños de agua caliente que no llegan a alcanzar la ebullición. El tiempo de inmersión dependerá, sobre todo, del calibre de la pieza pero, en todos los

casos, debe ser suficiente para que en el interior del producto se alcance una temperatura de pasteurización, que se mantendrá hasta que se complete el tratamiento térmico. A esta temperatura no se destruyen las endosporas bacterianas ni las esporas fúngicas, por lo que podrían desarrollarse posteriormente si el jamón se almacena a temperatura ambiente. Es por ello que tras el tratamiento térmico se debe proceder a un rápido enfriamiento (ver apartado 3.4.14.) que debe continuar durante el almacenamiento.

La cocción puede llevarse a cabo de diferentes maneras: a temperatura constante (generalmente a unos 80° C) o con temperatura escalonada. Este último método se desarrolla en una primera fase de 30-60 minutos de duración a 90° C y una segunda a 75-85° C de duración similar. De esta manera, con la primera fase se consigue el cierre de los poros del jamón, lo que aumenta el rendimiento del producto final.

En cualquier caso, hay que evitar la "sobrecocción" pues conlleva una consistencia inadecuada, escaso desarrollo del color o inestabilidad del mismo, pérdida de jugosidad y alteraciones del sabor.

Una vez efectuado el tratamiento térmico, es preciso tener cuidado con la posterior manipulación ya que existe un importante riesgo de contaminación, sobre todo por bacterias lácticas que son los principales microorganismos alterantes de este producto. Los jamones cocidos tradicionales son más propensos al deterioro microbiano por su menor contenido en sal y aditivos que los jamones convencionales.

### **3.4.13. REPRESADO**

Se utiliza en jamones no malaxados para terminar de configurar su forma final.

### **3.4.14. ENFRIAMIENTO**

Se emplean duchas (de agua o aire fríos) o baños (de agua fría) a 0-4° C, para reducir la temperatura del producto hasta valores de

refrigeración (4° C). Es importante que el descenso de la temperatura sea lo más rápido posible, sobre todo en el intervalo de 20-40° C pues en él existen temperaturas óptimas para la reactivación de la microbiota superviviente.

En las fases posteriores y en el almacenamiento del jamón antes de la venta no deberán superarse los 10° C.

#### **3.4.15. REPOSO EN MOLDE**

Oscila entre 12-48 horas tras el enfriamiento. En los procesos tradicionales se aconseja un día después de la cocción.

#### **3.4.16. ENVASADO**

Es una operación que requiere un alto grado de higiene. Antes de envasar la pieza se procede al “desmoldado”, es decir, la retirada del molde empleado durante la cocción. A continuación, cada pieza se introduce en un envase unitario y, con frecuencia, se envasa a vacío.



# JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

“La ciencia (...) no es más que una herramienta pero es la mejor herramienta que tenemos, se corrige a si misma, está siempre evolucionando y se puede aplicar a todo. Con esta herramienta conquistamos lo imposible”.

Carl Sagan





## **1. LA INDUSTRIA CÁRNICA ESPAÑOLA**

En la Unión Europea, en 2008, la industria de alimentación y bebidas constituyó el mayor sector manufacturero (965.000 millones de euros de facturación, un 12,9% respecto al total de la industria comunitaria), por delante de la industria automovilística y de la química (CIAA, 2009). En todo caso, resulta la primera en países como Dinamarca, Grecia, España, Holanda, Portugal y el Reino Unido; y la segunda en importancia en Bélgica, Francia e Irlanda. Representa el 13,6% de la producción industrial europea, aunque en algunos países como Dinamarca, llega al 20% de su producción. La industria europea de alimentación y bebidas es también líder en empleo, con 4,4 millones de trabajadores (13,5% del total de la industria europea), por delante de las industrias metalúrgicas, de maquinaria y de equipamientos (CIAA, 2009). Además, exporta sus productos a terceros países por valor de más de 58.000 millones de euros y cuenta con unas 310.000 empresas (CIAA, 2009). Por otra parte, el porcentaje de facturación del subsector cárnico europeo respecto al sector de la industria de alimentación y bebidas europea es del 21%, el mayor de todos los subsectores de dicha industria. Le siguen, en cuanto a volumen de facturación, el subsector de bebidas (15%) y el de lácteos (14%) (CIAA, 2009).

En España, las empresas de alimentación y bebidas aportan el 17% del total de la producción industrial, proporcionan el 12% del valor añadido y engloban el 17,8% del empleo industrial que supone 460.075 personas (Muñoz y Sosvilla, 2009). Las alrededor de 30.000 empresas del sector representan en ventas el 8,04% del PIB español (Barreiro, 2010a). Estas cifras permiten concluir que es una de las primeras actividades del país en términos económicos.

Dentro de la industria alimentaria española, el sector cárnico constituye actualmente una parcela estratégica de primera magnitud, como lo demuestra el hecho de que de los 86.851,12 millones de euros que alcanzó el gasto alimentario en España en 2009 (Muñoz y Sosvilla, 2009), un 20,8% correspondieron a carne y productos derivados, por encima de sectores de la pesca (12,6%) o del de leche líquida y derivados lácteos (7,5%) (MARM, 2009). Muestra del dinamismo del sector cárnico es el valor de sus exportaciones, principalmente de productos con alto valor añadido. En 2009, fue el

tercero en exportaciones (2.612 millones de euros), solo superado por el sector de bebidas y tabaco (8.357 millones de euros) y el de productos vegetales (9.721 millones de euros) (Muñoz y Sosvilla, 2009), La capacidad de producción de preparados cárnicos instalada en nuestras empresas, se acerca a los 3 millones de Tm / año, si bien la utilización real es poco más del 38%, es decir, 1.190.698 Tm en 2003. Esta circunstancia permite señalar que la industria cárnica está en disposición de incrementar significativamente la producción, si consigue mejorar el consumo interno y la exportación de sus productos elaborados. También cabe destacar que España es el segundo productor de carne cerdo de la Unión Europea, (solo superado ligeramente por Alemania), con un censo próximo a 25 millones de cabezas porcinas y a tres millones y medio de toneladas de carne de cerdo (AICE, 2010). A nivel mundial es el cuarto mayor productor de dicha carne por detrás de China, Estados Unidos y Alemania (CONFECARNE, 2010).

Para un valor total de ventas en la industria alimentaria europea de 720 millardos de euros, el subsector cárnico representa por sí solo el 20,5% del total industrial alimentario, es el segundo en valor añadido (a solo 0,2% del sector de bebidas), el primero en empleados (22,3% de 4,2 millones de empleos) y en número de empresas (16,8% de las 282.000 empresas).

En relación al jamón curado (Cruz, 2010), cabe decir que es uno de los productos cárnicos más apreciados de España. Se estima que en 2009 se produjeron 32.920.800 jamones de cerdo blanco y 5.160.804 de cerdo Ibérico, de los cuales 268.093 correspondieron a cerdo Ibérico puro y el resto a cruces con Duroc.

La industria del jamón curado (al igual que la industria alimentaria general y la cárnica en particular) se caracteriza por estar muy atomizada. Existen desde grandes grupos cárnicos polivalentes con intereses en otros sectores además del cárnico, hasta grandes secaderos de jamón que tienen marcas propias y prestan servicios a terceros de curación/secado y loncheado, pasando por los elaboradores de transformados cárnicos, los almacenis-

tas/distribuidores o, incluso, los restauradores especializados que actúan a veces como auténticos almacenes de jamón.

En cuanto al consumo total de jamón curado en España en 2009, se estima que ha sido de 73.260 toneladas para el jamón de cerdo blanco y de 20.797 para el de Ibérico, por un valor de 885,11 y 418,51 millones de euros, respectivamente. El consumo anual *per cápita* del jamón de cerdo blanco fue de 1,60 kg y del ibérico de 0,45 kg. El gasto anual *per cápita* para el jamón de cerdo blanco fue de 19,34 euros y para el ibérico de 9,16 euros.

A día de hoy, el jamón curado español cuenta con diversas figuras de calidad (Barreiro 2010b): cinco Denominaciones de Origen Protegidas (DOP Dehesa de Extremadura, DOP Guijuelo, DOP Huelva, DOP Teruel y DOP Los Pedroches), una Indicación Geográfica Protegida (IGP Trevélez) y una Especialidad Tradicional Garantizada (ETG Serrano).

## **2. EI I + D + i EN PRODUCTOS CÁRNICOS**

## 2.1. El CECOC-PTC

Frente a la importancia del sector cárnico en nuestro país, el Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (PN de I+D+i) 2000-03 propuso, en el Área de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias, la creación del primer **Centro de Competencia Científico-Tecnológica, que lo fue en Productos Transformados de la Carne (CECOC-PTC)**, para coordinar las líneas de investigación en desarrollo, impulsar la obtención de resultados a las necesidades del sector con el fin último de auxiliar a la industria cárnica y mejorar la calidad de los productos cárnicos españoles. Para la selección de los grupos de I+D integrantes en el CECOC-PTC se realizó una convocatoria específica (Orden Ministerial CTE/2740/2002, véase BOE nº 265 de 05/11/2002) donde se fijaron los requisitos mínimos y las condiciones de evaluación y selección. La ANEP (Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva) realizó la evaluación de los grupos de I+D públicos solicitantes, y el CDTI los tecnológicos del sector privado. Como resultado de dicha evaluación se publicó la adscripción de los grupos integrantes en la red en sendas Resoluciones de 27 de junio de 2003 y de 16 de octubre de 2003 (BOE nº 223 de 17/10/2003 y BOE nº 298 de 13/12/2003, véase anexo del citado BOE). Se adscribieron al CECOC-PTC 10 grupos de I+D y 5 grupos independientes, lo que significó la incorporación de 126 investigadores de los que 104 eran doctores (70%). De estos, dos de ellos, Dr. Ordóñez y Dr. de la Hoz (†) son los directores de la presente tesis que fueron incluidos como grupo de la Universidad Complutense, con el código CECOC-PTC-03-05 (véase anexo de BOE nº 223 de 17/10/2003). De hecho se incluyeron en el Centro de Competencia prácticamente todos los grupos de excelencia que realizaban investigaciones de I+D en carne y productos cárnicos, y representaban el 80% del total de investigadores que trabajaban en el tema. Los grupos seleccionados establecieron sendos acuerdos de adhesión al CECOC-PTC, estableciéndose la relación entre los grupos a través de su vinculación a las decisiones del Consejo de Dirección del CECOC-PTC y a los proyectos propuestos por su Comisión Delegada, y se determinan sus derechos entre los cuales figuran explícitamente los de uso de las infraestructuras que estén adscritas

a los grupos pertenecientes al CECOC-PTC y que sean necesarias para la ejecución de los proyectos estratégicos del CECOC-PTC. Puede decirse, pues, que esta tesis se ha desarrollado bajo el patrocinio del CECOC-PTC, acogiéndose a las bases reguladoras reflejadas en la Orden Ministerial CTE/2740/2002, de 25 de octubre (BOE de 5 de noviembre).



## **2.2. ACTIVIDADES DE LA MODERNA INDUSTRIA CÁRNICA**

La moderna industria alimentaria, aparte de producir alimentos tradicionales, orienta sus actividades de acuerdo con la demanda de los consumidores, las rigurosas exigencias higiénicas impuestas por las autoridades sanitarias sobre seguridad de los alimentos y las necesidades nutricionales de la población, tanto de carácter general (alimentos saludables) o, en particular, para colectivos especialmente sensibles (hipertensos, ancianos, inmunocomprometidos diabéticos, obesos, etc.). La industria cárnica española no es ajena a estos desafíos y, por tanto, ha evolucionado para satisfacer las demandas anteriores dando lugar al advenimiento de nuevos productos, nuevas formulaciones, productos adicionados de ingredientes tecnológicos y funcionales, o nuevas formas de presentación de productos tradicionales para facilitar su consumo. Esta evolución de la industria cárnica para adaptarse a los hábitos y exigencias de los consumidores de la sociedad del siglo XXI ha dado lugar a nuevos problemas y algunos desafíos: unos, de gran importancia que es necesario atajar, como la necesidad de higienizar los productos listos para su consumo; algunos, derivados de los cambios que se pueden introducir en la producción de ciertos productos cárnicos, como es la muy posible reducción de nitritos en productos curados, que requiere estudiar sus consecuencias y otros, resultantes de los avances científicos en las necesidades nutricionales de los humanos, como son las que se refieren a la calidad de los ácidos grasos, que conlleva la necesidad de optimizar la composición de muchos alimentos transformados para que contengan una proporción mayor de ácidos grasos saludables. La presente tesis constituye una investigación en la última vertiente antes mencionada, es decir, en la mejora de la calidad nutricional de la carne y productos cárnicos, específicamente en el enriquecimiento en ácidos grasos de la familia n-3.

### **3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL TRABAJO**

El autor de esta memoria, en un afán de contribuir al desarrollo de la industria cárnica española, aceptó el desafío que le propusieron sus supervisores acerca de participar en el desarrollo de un proyecto de investigación con la intención de aportar nuevos conocimientos sobre la posibilidad de elaborar productos curados del cerdo enriquecidos en ácidos grasos n-3, con el objetivo final de mejorar su calidad nutricional. Con ello, se pretendía obtener la suficiente información para poder comunicar a la industria cárnica la posibilidad de diversificar sus productos, dotándolos de una mejor imagen nutricional.

El presente trabajo forma parte de una investigación más amplia financiada por los proyectos ALI98-0705, titulado "Elaboración de productos cárnicos enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3"; AGL2000-0050-P4-02 titulado "Elaboración de jamones serranos enriquecidos en vitamina E y ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3"; y AGL2003-05803 de título "Efecto cualitativo y cuantitativo de la ingesta calórica y del ciclo productivo en las características de productos cárnicos ibéricos curados (jamón y lomo)", concedidos por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT).

En la Introducción se ha estudiado detalladamente las funciones biológicas de los PUFAs y se ha analizado la evolución que ha sufrido el ingreso de alimentos con la dieta de ácidos grasos de las familias n-6 y n-3, reduciéndose significativamente el nivel de los últimos y aumentando los n-6. A la vista, por una parte, de los descubrimientos que cada se día se van haciendo acerca de las numerosas funciones fisiológicas de los PUFAs y la necesidad de enriquecer la dieta en PUFAs n-3, sin olvidar el carácter de ácido graso esencial del ácido linoleico y, por otra, la posibilidad de manipular la composición en ácidos grasos de tejidos y órganos de los animales monogástricos administrándoles una dieta de una composición definida, se planeó acometer las investigaciones que se describen en esta memoria, destinadas a preparar diversos productos cárnicos enriquecidos en PUFAs n-3. El trabajo se ha centrado en la elaboración tanto de jamón cocido como de jamón y lomo curados dado que son las piezas más "nobles" de la canal. Todos ellos de gran importancia pero los que

adquieren mayor relevancia son, sin lugar a dudas, la de los productos curados por ser elaboraciones cárnicas genuinas fabricadas tradicionalmente en España que pueden dar lugar, al mejorar sus propiedades nutricionales, a potenciar el consumo en el mercado interior e incrementar la exportación a otros países.

Sin embargo, primero se estudió el músculo *Psoas major*, con el fin conocer así la modificación del perfil de ácidos grasos en carne fresca y su estabilidad frente al oxígeno atmosférico. El solomillo es una pieza de carne magra y, por tanto, los resultados obtenidos en él reflejarían el comportamiento de otras piezas musculares componentes del lomo (principalmente, el músculo *Longissimus dorsi*) y del jamón frescos. Dada la complejidad muscular del jamón se eligieron como modelo, los músculos *Biceps femoris* y el *Semiten-dinosus/Semimebranosus* que corresponden a las porciones más voluminosas del jamón. Ambos productos son, indiscutiblemente, los más apreciados por los consumidores una vez han sido sometidos a maduración. Durante este proceso el producto se deshidrata parcialmente y se produce una sucesión de múltiples rutas de degradación y síntesis que van a dar lugar a la generación de las sustancias volátiles propias de cada uno. Tanto en lomos como en jamones acaecen fenómenos enzimáticos y oxidativos durante su maduración pero en las últimas reacciones, las oxidativas, es donde quizás radique la mayor diferencia en la maduración de uno y otro producto dado que el lomo se embute en tripa y aún siendo permeable siempre supone una barrera frente al ingreso del oxígeno mientras que el jamón se madura sin protección y está continuamente en contacto con el aire del entorno. De ahí que tampoco puede olvidarse el efecto de la microbiota que se implanta en su superficie y la que muy lentamente migra hacia el interior junto al movimiento de partículas (por ejemplo, sal) en un intento de llegar a un equilibrio isotónico

Como, por una parte, los tipos de jamón madurado que se producen en España son diversos, dependiendo de razas y técnicas tradicionales y, por otra, la alimentación en primer lugar y la maduración después influyen poderosamente en la composición en ácidos grasos del producto final, se hizo un estudio previo del

contenido en ácidos grasos de jamones madurados convencionales procedentes de varias zonas geográficas, concretamente la Especialidad Tradicional Garantizada Jamón Serrano y jamones procedentes de distintas Denominaciones de Origen: Jamón de Teruel, Dehesa de Extremadura, Jamón de Huelva y Guijuelo. Se obtuvieron valores de la relación n-6/n-3 comprendidos entre 9,36 para el de la Dehesa de Extramadura y 13,75 para el de Huelva. Estos valores duplican en el mejor de los casos y llegan incluso a triplicar al límite de alrededor de 4 que fue, años atrás, el más frecuentemente recomendado por las autoridades nutricionales y aquí se ha utilizado para fortalecer aún más las pretensiones de llevar a cabo el trabajo, cuyo objetivo global es:

**Mejora de la calidad nutritiva de productos curados de origen porcino mediante la modificación de la composición de ácidos grasos a través de la administración a los cerdos de piensos enriquecidos con aceite de linaza y de oliva, ricos en ácido linolénico y oleico, respectivamente, con la meta de incrementar la concentración de ácidos grasos n-3 en el producto final.**

Los trabajos que han resultado de los datos obtenidos en el desarrollo experimental se citan a continuación. Dado que están ya publicados la gran mayoría de los datos, se optó por redactar esta memoria con el formato de "artículos", seguidos de una Discusión General con el fin de ofrecer una visión global de la importancia y trascendencia de los resultados.

Artículo 1. Hoz, L.; López-Bote, C. J.; Cambero, I.; D'Arrigo, M.; Pin, C.; Santos, C. y Ordóñez, J. A. (2003). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle. *Meat Science* **65** (3), 1039-1044.

- Artículo 2. Santos, C.; Ordóñez, J. A.; Cambero, M. I.; D'Arrigo, M. y de la Hoz, L. (2004). Physicochemical characteristics of an  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched cooked ham. *Food Chemistry* **88** (1), 123-128.
- Artículo 3. Fernández, M.; Ordóñez, J. A.; Cambero, I.; Santos, C.; Pin, C. y Hoz, L. (2007). Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry* **101** (1), 107-112.
- Artículo 4. Hoz, L.; Cambero, I.; Santos, C.; Herranz, B. y Ordóñez, J. A. (2007). Fatty acids and sensory characteristics of Spanish dry-cured loin enriched in acid  $\alpha$ -linolenic and  $\alpha$ -tocopherol. *Food Chemistry* **101** (4), 1701-1706.
- Artículo 5. Santos, C.; Hoz, L.; Cambero, I.; Cabeza, C. y Ordóñez, J. A. (2008). Enrichment of dry-cured ham with  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol by the use of linseed oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate in pig diets. *Meat Science* **80** (3), 668-674.



# **MATERIAL Y MÉTODOS**

“Si no conozco una cosa, la investigaré”.

Louis Pasteur





## **1. MATERIAL**

## 1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

### 1.1.1. RACIONES EXPERIMENTALES

Se elaboraron cinco piensos formulados por programación lineal. Para ello, se utilizaron ingredientes y correctores de uso común en España: cebada, trigo, harina de soja, carbonato cálcico, fosfato bicálcico, sal común, concentrado vitamínico mineral y grasas. Los piensos se presentaron en forma de gránulos de 4 mm de sección. Sus diferencias principales radicarón en el tipo de grasa adicionada: 3% de aceite de girasol para el lote control (C), 3% de aceite de linaza para el lote experimental L (linaza) y 3% de una mezcla de aceite de linaza y orujo de oliva en proporción 1:1, para el LO (linaza + oliva).

Por otra parte, se adicionó vitamina E sintética (200 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol / kg de pienso (*Hoffman La Roche*, Suiza) en dos lotes idénticos a los anteriores que se denominaron LE (linaza + vitamina E) y LOE (linaza + oliva + vitamina E), respectivamente. Por consiguiente, los lotes C, L y LO solo contienen tocoferol procedente de sus constituyentes naturales mientras los LE y LOE presentan además el de la suplementación dietética mencionada.

Las tablas M.1., M.2., M.3., M.4. y M.5. muestran datos relativos a los piensos.

**Tabla M.1. Diferencias fundamentales en el diseño de las raciones experimentales y nomenclatura de las mismas.**

<b>Ración</b>	<b>Grasa y antioxidante</b>	<b>Nomenclatura</b>
1	Girasol (3,0%)	C
2	Linaza (3,0%)	L
3	Linaza (3,0%) + Vitamina E (0,02%)	LE
4	Linaza (1,5%) + Oliva (1,5%)	LO
5	Linaza (1,5%) + Oliva (1,5%) + Vitamina E (0,02%)	LOE

**Tabla M.2. Contenido en agua (g / 100 g pienso), proteína (g / 100 g extracto seco), grasa (g / 100 g extracto seco) y vitamina E (mg / kg extracto seco) de los piensos experimentales.**

<b>Dieta</b>	<b>Humedad</b>	<b>Proteína</b>	<b>Grasa</b>	<b>Vitamina E</b>
C	11,05	17,80	5,10	25,75
L	11,15	17,55	5,05	24,58
LE	10,75	17,65	5,00	225,53
LO	11,20	17,50	4,70	26,31
LOE	10,80	17,75	4,85	230,15

**Tabla M.3. Composición (g / 100 g pienso) de los piensos experimentales.**

Ingredientes	Ración experimental				
	C	L	LE	LO	LOE
Cebada	50,45	50,45	50,45	50,45	50,45
Trigo	20,61	20,61	20,61	20,61	20,61
Soja 47	23,08	23,08	23,08	23,08	23,08
Aceite de girasol	3	-	-	-	-
Aceite de linaza	-	3	3	1,5	1,5
Aceite de oliva	-	-	-	1,5	1,5
Sal común	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Fosfato bicálcico	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21
Carbonato cálcico	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
L-lisina	0,036	0,036	0,036	0,036	0,036
Súper P-111-Z	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Vitamina E	-	-	0,02	-	0,02
Total	100	100	100	100	100

**Tabla M.4. Principales características nutritivas de los piensos experimentales.**

<b>Parámetro nutricional</b>	<b>Cantidad (g / 100g de pienso)</b>
Energía metabolizable (kcal / kg)	3150,00
Energía neta (kcal / kg)	2358,00
Materia seca	89,32
Proteína bruta	18,00
Grasa	4,41
Fibra	3,88
Almidón	38,77
Calcio	0,70
Lisina	0,97
Metionina	0,27
Metionina + Cisteína	0,61
Treonina	0,68
Triptófano	0,25
Arginina	1,15

**Tabla M.5. Composición en ácidos grasos (% del total de ésteres metílicos) de los distintos piensos.**

Ácido graso	Ración				
	C	L	LE	LO	LOE
C12:0	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
C14:0	0,18	0,11	0,11	0,09	0,11
C16:0	12,43	11,91	11,93	13,38	13,65
C16:1n9	0,06	0,04	0,04	0,05	0,06
C16:1n7	0,24	0,14	0,11	0,33	0,36
C18:0	4,87	4,17	3,94	3,47	3,30
C18:1n9	26,06	20,55	20,10	32,84	34,17
C18:2n6	52,79	32,47	31,75	28,80	29,52
C18:2n3	0,01	0,07	0,07	0,04	0,04
C18:3n6	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
C18:3n3	1,75	28,65	30,68	19,17	16,84
C18:4n3	0,09	0,10	0,06	0,06	0,07
C20:0	0,35	0,27	0,26	0,36	0,35
C20:1n9	0,40	0,43	0,05	0,45	0,44
C20:3n9	0,08	0,07	0,01	0,05	0,05
C20:4n6	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01
C20:4n3	0,03	0,06	0,06	0,04	0,04
C20:5n3	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02
C22:1n9	0,09	0,28	0,28	0,22	0,22
C22:4n6	0,07	0,06	0,05	0,02	0,02
C22:5n3	0,31	0,34	0,23	0,23	0,26
C22:6n3	0,04	0,14	0,09	0,23	0,27
n-6/n-3	23,77	1,11	1,02	1,45	1,68

### **1.1.2. ANIMALES**

#### **1.1.2.1. Cuidado de los animales**

Los cerdos empleados en el ensayo fueron 50 hembras híbridas (Great York x Landrace) con el mismo origen y genotipo muy similar. Se eligieron solo hembras para eludir problemas relativos al olor sexual. Una vez estuvieron en la granja, fueron alimentadas durante una semana con una ración común, sin grasa añadida, para conseguir su adaptación a las nuevas instalaciones.

Después, se pesaron los animales ( $48,10 \pm 3,55$  kg) y alojaron al azar en distintos habitáculos experimentales, iniciándose la fase de cebo. Se efectuó un control de peso al inicio y al final de la misma.

Los cerdos se distribuyeron en 5 lotes, cada uno con 10 animales; recibieron agua y alimento *ad libitum*. Los lotes se designaron siguiendo una nomenclatura idéntica a la de las raciones, de modo que:

El lote C, fue alimentado con dieta Control (C).

El lote L, recibió dieta Linaza (L).

El lote LE, consumió dieta Linaza + Vitamina E (LE).

El lote LO, recibió dieta Linaza + Oliva (LO).

El lote LOE fue alimentado con Linaza + Oliva + Vitamina E (LOE).

La estancia de los animales en el cebadero finalizó cuando alcanzaron un peso vivo de  $100 \pm 7,09$  kg.

#### **1.1.2.2. Características de los alojamientos**

Los porcinos se alojaron en la nave de cebo individual de la estación experimental de Nutreco en Casarrubios del Monte (Toledo) que comprende:

- 2 salas



- “boxes” individuales (0,9 x 2 m) por sala
- suelo de “slat” total
- comedero individual
- bebedero individual de “tetina”
- ventilación dinámica
- calefacción por aire caliente
- refrigeración por *cooling*

#### **1.1.2.3. Sacrificio de los animales**

El sacrificio se llevó a cabo en el matadero homologado GYPISA (Pozuelo de Alarcón, Madrid). Las canales permanecieron allí 24 horas, a temperatura de refrigeración (4°C), en espera de la resolución del *rigor mortis*.

#### **1.1.3. JAMONES, LOMOS CURADOS Y SOLOMILLOS**

Tras la resolución del *rigor mortis* se procedió al despiece de las canales en GYPISA para obtener las porciones necesarias en la fabricación de los productos cárnicos. Éstas fueron diferentes según el tipo de producto.

##### **1.1.3.1. Fabricación de los jamones cocidos**

###### **1.1.3.1.a. Lote T=0 (tiempo cero)**

Se extrajeron las extremidades posteriores izquierdas de los animales y se “limpiaron” de huesos, piel, tendones y tejido adiposo. A partir de ellas, se elaboraron cinco lotes de jamones, con diez piezas por lote. La mitad constituyó el lote actual y el resto el lote T=1. Su identificación se correspondió con la de los lotes de los animales originales y los de las dietas (C, L, LE, LO y LOE) que

recibieron. La fabricación tuvo lugar en la Escuela de la Carne de Pozuelo de Alarcón (Madrid).

En la carne fresca se inyectó una salmuera con la siguiente composición: 125 g / l de cloruro sódico, 48 g / l de dextrosa, 18 g / l de fosfato, 6 g / l de ascorbato, 6 g / l de carragenato, 0,9 g / l de nitrato sódico y 0,3 g / l de nitrito sódico. A continuación fue masajeada 30 minutos (min) a 14 r.p.m. y almacenada durante 24 horas a 2°C. Se volvió a masajear otros 30 min y se mantuvo 24 horas más a 2°C. Tras un último masaje de 10 min se introdujo en un molde, se coció durante 4,5 horas a 82°C (asegurándose de que la temperatura central de la pieza alcanzara 70°C) y se envasó en refrigeración a vacío.

#### **1.1.3.1.b. Lote T=1 (tiempo uno)**

Su elaboración tuvo lugar de la misma manera y en el mismo lugar que los jamones del lote T=0. El lote T=1 se diferenció del anterior inmediatamente después de su elaboración, cuando ambos se transportaron al Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la UCM. Allí, el lote T=1 se mantuvo envasado a vacío durante 30 días en una cámara de refrigeración a 4°C. Con esta operación, se pretendió valorar su aptitud a la conservación en el comercio minorista.

#### **1.1.3.2. Fabricación de los jamones curados**

Igualmente, se elaboraron 50 jamones curados que fueron clasificados e identificados de la misma manera que los cocidos (C, L, LE, LO y LOE). Los perniles procedieron de las extremidades posteriores derechas de los animales. Las operaciones correspondientes al procesamiento tuvieron lugar en la industria cárnica Campofrío (Navidul) en Torrijos (Toledo). Los perniles se salazonaron en una sala acondicionada a 3-5°C con una humedad relativa del 75-85%. La técnica aplicada fue el apilamiento con sal, que se prolongó 1 día por kg de pernil, restándole 1 día a la operación. Una vez finalizada, se lavaron los perniles con agua fría y entraron en la fase de postsalado para equilibrar su concentración

salina. Con este fin, se mantuvieron colgados durante 30 días a la misma temperatura del salazonado. El secado se desarrolló en 2 fases: la primera se prolongó a lo largo de 3 meses a una temperatura de 13-15°C y una humedad relativa del 75-85%. La segunda duró 4 meses en los que se empleó una temperatura ambiente de 22-26°C y una humedad relativa del 60-75%. Transcurrida la etapa de secado, los jamones se sometieron a una maduración de 4 meses a 12-17°C con una humedad relativa del 60-80%, hasta alcanzar un periodo de fabricación de 1 año.

Al finalizar la elaboración, los jamones curados fueron deshuesados y envasados a vacío para su traslado inmediato al Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la UCM.

### **1.1.3.3. Fabricación de los lomos curados**

#### **1.1.3.3.a. Lote T=0 (tiempo cero)**

Se obtuvieron los músculos *Longissimus dorsi* (lomo) del lado izquierdo de la canal y a partir de ellos se elaboraron los lomos curados. Dichos músculos, una vez extraída la grasa de cobertura y el tejido conectivo, pesaron alrededor de 3 kg cada uno. Los músculos se clasificaron según las dietas de los animales en C, L, LE, LO y LOE y según su aptitud a la conservación en el comercio minorista en T=0 (el presente lote), T=1 y T=4.

La fabricación tuvo lugar en la Escuela de la Carne de Pozuelo de Alarcón (Madrid), para ello se preparó una mezcla de ingredientes y aditivos constituida por (g / kg de carne): agua (25), NaCl (25), glucosa (5), sales de curado (nitritos [1] y nitratos [2]), ácido ascórbico (1), pimentón dulce (15), pimentón picante (5), ajo en polvo (2) y orégano (1). Los lomos se cubrieron totalmente con esta mezcla y se mantuvieron a 4°C durante 48 horas. A continuación, fueron introducidos en una cámara de maduración Ibercex modelo (mod.) G-28, donde permanecieron a 23°C con un 94% de humedad relativa durante 48 horas. A partir de entonces, la temperatura y la humedad relativa se redujeron paulatinamente hasta unos valores de

8°C y 84%, respectivamente, al cabo de 72 horas. Estas condiciones se fijaron hasta el final de la maduración (un total de 25 días), momento en el cual la  $a_w$  se mantuvo por debajo de 0,92. Todo el proceso tuvo lugar en la Escuela de la Carne de Pozuelo de Alarcón (Madrid).

Al finalizar la elaboración, los lomos curados fueron envasados a vacío para su traslado inmediato al Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la UCM.

#### **1.1.3.3.b. Lotes T=1 y T=4 (tiempo uno y tiempo cuatro)**

El lote T=1 se diferenció del anterior inmediatamente después de su elaboración. Al llegar al Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la UCM, se mantuvo envasado a vacío durante 30 días en una cámara de refrigeración a 4°C. En cambio, el lote T=4 se envasó en dicha cámara a igual temperatura pero durante 120 días. En ambos casos, con estas operaciones de almacenamiento en refrigeración se pretendió valorar la aptitud del lomo para su conservación en el comercio minorista.

#### **1.1.3.4. Obtención de los solomillos**

Se extrajeron los músculos *Psoas major* (solomillo) del lado izquierdo de la canal y se envasaron a vacío para su traslado inmediato al Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la UCM.

### **1.1.4. MUESTRAS**

#### **1.1.4.1. Procedentes de los jamones cocidos**

Cada jamón se mantuvo durante cuatro días a 4°C en una cámara de refrigeración Frikey para evitar interferencias debidas a los cristales de hielo de la congelación. En ese tiempo se realizaron los análisis de color, sensoriales y de textura. Tras los mismos, los jamones se llevaron a unos arcones de congelación y congeladores verticales Liebherr programados a una temperatura de -18°C. Desde

aquí se obtuvieron las muestras para efectuar los ensayos físico-químicos. Los jamones se mantuvieron envasados a vacío tanto en la refrigeración como en la congelación.

#### **1.1.4.2. Procedentes de los jamones curados**

Cuando los jamones llegaron al Departamento, se procedió a la extracción de los músculos *Biceps femoris* y *Semitendinosus* / *Semimembranosus*. Dichas piezas se mantuvieron envasadas a vacío durante cuatro días a 4°C en la cámara de refrigeración Frikey mencionada. En ese tiempo se realizaron los análisis sensoriales y de color. Posteriormente, los músculos se trasladaron a arcones de congelación y congeladores verticales Liebherr donde se congelaron a -18°C y también se mantuvieron a vacío. Desde aquí se tomaron las diferentes muestras para los análisis físico-químicos.

#### **1.1.4.3. Procedentes de los lomos curados**

Cada lomo se mantuvo durante cuatro días a 4°C en una cámara de refrigeración Frikey para evitar interferencias debidas a los cristales de hielo de la congelación. En ese tiempo se realizaron los análisis de color y sensoriales. Tras los mismos, los lomos se llevaron a unos arcones de congelación y congeladores verticales Liebherr programados a una temperatura de -18°C. Desde aquí se obtuvieron las muestras para efectuar los ensayos físico-químicos. Los lomos se mantuvieron envasados a vacío tanto en la refrigeración como en la congelación.

#### **1.1.4.4. Procedentes de los solomillos**

Una vez llegaron a Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, los solomillos se almacenaron en unos arcones de congelación y congeladores verticales Liebherr programados a una temperatura de -22°C. Desde aquí se obtuvieron las muestras para efectuar los ensayos físico-químicos.

## 1.2. MATERIAL DE LABORATORIO

### 1.2.1. MATERIAL GENERAL DE LABORATORIO

Las disoluciones acuosas ordinarias se prepararon en agua destilada, con una calidad  $\leq 15 \text{ M}\Omega$ , que se obtuvo por ósmosis inversa en un aparato Millipore modelo Elix-3. Las disoluciones acuosas empleadas en el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se prepararon con agua Milli Q (bidestilada y desionizada) de calidad nunca inferior a  $18,2 \text{ M}\Omega$ , obtenida por ósmosis inversa y filtración mediante un aparato Millipore mod. QTUM000EX acoplado al anterior.

Las pesadas ordinarias se realizaron en balanzas monoplato AND mod. FX-320 de cuatro dígitos y hasta tres decimales en pantalla. Las pesadas de precisión se realizaron en balanzas analíticas AND mod. HR-120 de cinco dígitos y hasta cuatro decimales en pantalla.

Los baños de calor termostatados eran de la marca Selecta mod. Digiterm 3000613.

Las homogeneizaciones se efectuaron con homogeneizadores Polytron mod. PT 10-35.

El hielo triturado necesario para el baño que se empleó en la homogeneización de las muestras lo produjo una máquina Scotsman mod. AF-10 a una temperatura en torno a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Las mediciones de absorbancia se hicieron en un espectrofotómetro de doble haz UV-VIS Hitachi mod. U-2000.

Las centrifugaciones se realizaron en centrífugas Sorvall mod. RC-5B y Alresa mod. Digitor, y en una minífuga Heraeus mod. PicoBiofuge.

La concentración de volúmenes de disolventes orgánicos relativamente grandes tuvo lugar en un rotavapor Büchi mod. EL acoplado a un baño calefactor y éste, a su vez, a una bomba de vacío

Eyela mod. A-3S. En cambio, los volúmenes pequeños (inferiores a 20 ml) se evaporaron mediante corriente de nitrógeno.

El pH se midió con un pH-metro Crison mod. 2001.

Para la filtración a vacío se utilizó una bomba Eyela mod. A-3S unida por tubos de goma a un kitasato.

Las micropipetas empleadas fueron Eppendorf mod. 20, 200, 1000 y 500C y las multicanal Labsystem mod. Finnipipette. También se utilizaron pipeteadores automáticos Falcon mod. Pipet-aid e Integra Biosciences mod. Pipetboy Acu.

La filtración de las muestras se efectuó a través de filtros Whatman y Millipore.

Las microjeringas de 10  $\mu$ l utilizadas en la cromatografía de gases procedieron de la casa comercial Hamilton. Su limpieza periódica se efectuó por ultrasonidos mediante un aparato Branson mod. 42.

El material general de vidrio fue suministrado por Afora y Pyrex.

Las muestras que requirieron una división fina se sometieron a la acción de una picadora Moulinex mod. D56. Para aquellas que debían ser troceadas se emplearon unos cuchillos apropiados para reducirlas al tamaño deseado.

La agitación de las muestras a temperatura controlada se hizo en un agitador orbital Lab-Line mod. 33C.

### **1.2.2. MATERIAL ESPECÍFICO EMPLEADO EN LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS Y SENSORIALES**

#### **1.2.2.1. Patrones**

El patrón 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), empleado para hallar el índice TBARS, el de los ésteres metílicos de ácidos grasos y el de la vitamina E, procedieron de Sigma.

#### **1.2.2.2. Reactivos y disolventes**

Los productos químicos empleados en los procesos de extracción fueron de calidad de análisis o, al menos, de calidad de síntesis. Las sustancias utilizadas en las determinaciones analíticas fueron de calidad de análisis y, dentro de ésta, las correspondientes a las técnicas cromatográficas fueron de la calidad superior apropiada en cada caso. Procedían de Merck, Nessler, Panreac, Lab-Scan, Scharlau, Fluka y Sigma.

#### **1.2.2.3. Gases**

El nitrógeno empleado en la concentración de las muestras lo suministró Carburos Metálicos.

Los gases para cromatografía de gases procedían de Air Liquide (el helio) y de Carburos Metálicos (el aire sintético y el dióxido de carbono) Todos eran de pureza superior al 99,999%.

#### **1.2.2.4. Material empleado en la determinación de humedad, cenizas y actividad de agua ( $a_w$ ).**

Las cápsulas de porcelana que contenían las muestras tanto en el análisis de humedad como en el de cenizas eran de la firma Pobel.

La deshidratación de las muestras se realizó en una estufa Heraeus mod. T6200.

La reducción a cenizas de la muestra tuvo lugar en un horno mufla de la marca Heraeus mod. M170.



La  $a_w$  se determinó gracias a un medidor Decagon CX-1 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA).

### 1.2.2.5. Material cromatográfico

#### 1.2.2.5.a. Cromatografía de gases (GC)

Se trabajó con un cromatógrafo Perkin-Elmer mod. 8420 (figura M.1.) equipado con un inyector *split/splitless* de vaporización con temperatura programable (PTV), un programador de temperatura de horno y un detector de ionización de llama (FID). Se usó una columna capilar Innovax con fase estacionaria de polietilenglicol Hewlett Packard (30 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu$ m).

**Figura M.1. Cromatógrafo de gases empleado en el análisis de los ésteres metílicos.**



#### **1.2.2.5.b. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

Las determinaciones se realizaron en un cromatógrafo Beckman Instruments mod. System Gold (figura M.2.), constituido por un inyector automático mod. AS502, dotado de *loop* de inyección intercambiable, dos bombas modulares mod. 126 y un detector UV-VIS mod. 166.

El funcionamiento del equipo se controló a través de un ordenador PC 486 DX2 mediante el programa System Gold Nouveau versión 1.6., que permitió también la obtención, análisis e integración de los picos del cromatograma.

Para la determinación de vitamina E se empleó una columna de fase reversa C18 (RP-18, Hewlett Packard). La fase móvil era metanol:agua (97:3 v/v). Se purificó con filtros Millipore FH de 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro con la ayuda del vacío generado por una bomba Eyela mod. A-3S. Su posterior desgasificación se realizó por ultrasonificación en un aparato Branson mod. 42, haciendo vacío mediante la bomba mencionada en el párrafo anterior. Previamente a su inyección, las muestras se filtraron mediante un filtro de 4 mm de diámetro Millipore mod. Millex-GV de 0,22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro por la presión suministrada por una jeringa de 5 ml Ruthe.

**Figura M.2. Cromatógrafo HPLC empleado en el análisis de vitamina E.**



#### **1.2.2.6. Material reológico**

Las muestras para el análisis de corte se prepararon con ayuda de una cortadora de fiambre Solac mod. 859. En el caso del análisis de compresión, una vez seccionado cada músculo, la forma definitiva de la muestra se consiguió con un "sacabocados" que también servía de molde.

El análisis de textura fue realizado en un texturómetro Stable Micro Systems mod. TAXT 2i/25 manejado desde un ordenador PC con microprocesador Pentium III mediante el programa Texture Expert versión 1.11.

Para la prueba de compresión (TPA) la muestra se situó sobre una plataforma de aluminio mod. HDP/90 y se sometió a la acción de una sonda cilíndrica de aluminio de 25 mm de diámetro mod. P/25.

Para la prueba de corte se utilizó una sonda de corte reversible de aluminio mod. HDP/BS, colocando la muestra sobre una plataforma perforada para el paso de la cuchilla.

#### **1.2.2.7. Material para análisis sensorial**

Las diversas pruebas se efectuaron en la sala de catas del Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la UCM, construida según la Norma ISO/DP 66.58 (ISO 1981a). Consta de un área de preparación y servicio de muestras y otra de degustación de las mismas. Esta última dispone de seis cabinas individuales, independientes entre sí y comunicadas con la zona de preparación y servicio mediante ventanillas giratorias. Cada cabina está equipada con una mesa de trabajo, una silla, iluminación blanca y/o roja, una pila y un grifo con agua corriente.

Los catadores recibieron una hoja de respuestas para cada análisis, según los modelos especificados en las figuras M.4. y M.5.

#### **1.2.2.8. Material empleado en la determinación de proteínas**

La digestión de las muestras se llevó a cabo en un digestor Kjeldahl Büchi Digestion Unit K-435 acoplado a una bomba Büchi Switzerland, la cual retiró los gases producidos durante el proceso de digestión.

La neutralización y destilación de las muestras digeridas se efectuó en un destilador Kjeldahl Büchi Distillation Unit B-324.

### **1.3. MATERIAL PARA ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico de los resultados se realizó con el programa informático SAS para Windows 2000.

**Figura M.3. Modelo de hoja de respuestas empleado en el análisis preferencial.**

**EVALUACIÓN SENSORIAL DE .....**

**NOMBRE Y APELLIDOS:**

**MUESTRA:**

**INSTRUCCIONES:**  
Enjuáguese la boca con agua y coma un poco de pan antes de valorar la muestra. Fíjese en cada uno de los atributos sensoriales que se indican e intente, en la medida de lo posible, aislarlo de los demás. De acuerdo con la sensación de agrado, marque una línea vertical sobre la horizontal correspondiente a cada atributo.  
No olvide indicar el número de la muestra. Muchas gracias.

**OLOR**

Muy desagradable \_\_\_\_\_ Muy agradable

**COLOR**

Muy desagradable \_\_\_\_\_ Muy agradable

**SABOR**

Muy desagradable \_\_\_\_\_ Muy agradable

**TEXTURA**

Muy desagradable \_\_\_\_\_ Muy agradable

**DUREZA**

Muy blando \_\_\_\_\_ Muy duro

**COMENTARIOS:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Figura M.4. Modelo de hoja de respuestas empleado en el análisis triangular.**

**EVALUACIÓN SENSORIAL DE .....**

**NOMBRE Y APELLIDOS:**

**MUESTRA:**

**INSTRUCCIONES:**

Enjuáguese la boca con agua y coma un poco de pan antes de probar cada muestra. Intente identificar la diferente entre las tres que se le presentan.  
No olvide indicar el número de la muestra.

-----	-----	-----
XXX	XXX	XXX

**Muchas gracias**

## **2. MÉTODOS**



## **2.1. METODOLOGÍA EMPLEADA EN LOS ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS**

### **2.1.1. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS LÍPIDOS**

La fracción lipídica total se obtuvo empleando el método de Bligh y Dyer (1959), modificado posteriormente por Hanson y Olley en 1963. Esta técnica permite la extracción de todos los lípidos de la muestra, incluso aquellos de mayor polaridad, y su posterior caracterización, ya que basa la recuperación de los mismos en la utilización de una mezcla de cloroformo/metanol/agua (2/2/1, v/v/v).

El ensayo se llevó a cabo partiendo de 20 gramos de muestra a los que se añadieron 40 ml de metanol, 20 ml de cloroformo, 9 ml de agua destilada y una punta de espátula de BHT para evitar la oxidación de los lípidos durante el proceso. A continuación se sometió a la acción de un homogenizador, acoplado a un baño de hielo, durante 3 min. Pasado este tiempo, se añadieron 20 ml de agua destilada y 20 ml de cloroformo y se volvió a homogeneizar durante 2 min adicionales. Aunque a partir de este punto ya se puede apreciar la definición de tres fases (una superior fundamentalmente acuosa, una intermedia proteica y una inferior rica en cloroformo y grasa), se procedió a una separación más precisa de las mismas mediante una centrifugación (1000 g durante 20 min a 15°C).

De las tres fases se descartaron las dos superiores: la acuosa por succión y la intermedia dejándola tal cual en el tubo de centrifuga. Ésta, se perforó para extraer la fase clorofórmica inferior, o bien se apartó a un lado para permitir el acceso a una pipeta con la que se pudiera obtener la fase clorofórmica. Se utilizó un sistema u otro, dependiendo del grosor y consistencia de la fase proteica.

Se recogieron 20 ml de la solución de cloroformo y grasa (que debería estar compuesta por 40 ml si no hubiera cierta evaporación del cloroformo), es decir, un 50% de los lípidos de la muestra. El volumen extraído se filtró a través de un algodón impregnado en cloroformo/metanol (2/1) y en sulfato sódico anhidro para retener

restos de agua e impurezas. Dicho volumen se recogió en un matraz de vidrio previamente pesado. La mayor parte del cloroformo se evaporó en un rotavapor y el disolvente residual mediante burbujeo de una corriente de nitrógeno. La finalización del proceso consistió en eliminar restos de humedad en un desecador a vacío, hasta alcanzar peso constante. Aproximadamente en una hora.

El porcentaje de grasa de las muestras se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ grasa} = (P_g - P_v) \times 100 \times 2 / M$$

donde:

$P_g$  = peso del matraz con grasa desecada (g)

$P_v$  = peso del matraz de recogida vacío (g)

$M$  = peso de la muestra (g)

El resultado de la fórmula se multiplicó por un factor 2 porque en la técnica sólo se recogen 20 ml de los 40 teóricos que constituyen la fase clorofórmica.

Los extractos lipídicos obtenidos se almacenaron a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta posteriores análisis, previamente a los cuales se mantuvieron en un desecador a vacío durante dos horas para eliminar la humedad adquirida en el congelador.

Dada la heterogeneidad del producto, las extracciones y análisis se efectuaron por triplicado.

## **2.1.2. DETERMINACIÓN DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA**

### **2.1.2.1. Oxidación inducida**

La susceptibilidad a la oxidación se determinó por una modificación del método de Kornbrust y Mavis (1980). Se homogeneizaron 3 g de muestra con 27 ml de una disolución de KCl al 1,15% durante 45 segundos y se recogieron 2 ml, 1 ml para

determinar el contenido en proteína y el otro para analizar la oxidación inducida. Este último homogeneizado se mezcló con 5 ml de una disolución de Tris maleico 80 mM a pH 7,4, 2 ml de ácido ascórbico 2 mM y 2 ml de sulfato ferroso 5 mM. Todas las disoluciones se prepararon diariamente, excepto la de Tris maleico que se preparó una vez por semana.

Tras homogeneizar la mezcla cuidadosamente en un tubo de ensayo con tapón de rosca, se tomó un volumen conocido (0,4 ml) que se mezcló con dos volúmenes de reactivo TBA-TCA-HCl (0,375% de ácido tiobarbitúrico y 15% de ácido tricloroacético en HCl 0,5 N) recién preparada en un tubo eppendorff y se dejó a temperatura ambiente. El tubo de ensayo con tapón de rosca que contenía el homogenizado de muestra se incubó a 37°C y a los 30, 60, 90 y 120 min. Se tomó otro volumen que se trató de la misma forma con el reactivo TBA-TCA-HCl en un tubo eppendorf. Para iniciar la reacción de oxidación y desarrollo de color se dispusieron todos los tubos eppendorf en un baño de agua caliente (90°C) durante 30 min y luego se centrifugaron 10 min a 9500 g y se recogió una cantidad suficiente del sobrenadante al que se le leyó la absorbancia a 532 nm frente a un blanco, constituido por el reactivo con un volumen de agua destilada.

El valor TBARS se expresó en nmoles de malonaldehído (MDA) / mg de proteína y se calculó según la ecuación:

$$\text{MDA (nmol / mg proteína)} = \frac{192,308 \times \text{Absorbancia}}{\text{Proteína (mg/ml)}}$$

La cantidad de proteína de la muestra se determinó por el método de Lowry y col. (1951), preparando previamente una recta patrón con seroalbúmina bovina (BSA).

Antes del análisis se preparó la disolución A (2% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,4% de NaOH y 0,16% de tartrato potásico en agua destilada) y la disolución B (CuSO<sub>4</sub> al 4% en agua destilada). A partir de las dos disoluciones anteriores se obtuvo la disolución C (100 partes de A con 1 de B). Además, se preparó otra disolución que se denominó D

(reactivo de Folin-Ciocalteu [kit constituido por una mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato] al 50% en agua destilada, que se mantuvo protegido de la luz hasta su uso).

Para la realización del análisis, a 10  $\mu$ l de muestra homogeneizada en la peroxidación inducida se añadieron 990  $\mu$ l de agua destilada, que se mezclaron con 3 volúmenes de la disolución C. La mezcla se agitó vigorosamente en un agitador de tubos y se incubó a temperatura ambiente durante 45 min. Tras ello, se añadieron 300  $\mu$ l de la disolución D, se agitó y volvió a incubar a temperatura ambiente durante 45 min. Finalmente, se leyó la absorbancia a 660 nm usando como blanco agua destilada sometida al mismo tratamiento.

La concentración de proteína se calculó mediante interpolación de los resultados obtenidos con la recta patrón de BSA.

#### **2.1.2.2. Oxidación no inducida (índice TBARS)**

Se realizó por la técnica de determinación del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), descrita por Salih y col. (1987), también llamada índice TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*).

El malondialdehído (MDA) es un producto final de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Pryor y col., 1976). La técnica se basa en que el aducto que forma el MDA con el TBA absorbe a la misma longitud de onda que el resultante de la unión del TBA al 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP). De esta manera, se puede preparar una recta patrón con el aducto TBA-1,1,3,3-tetraetoxipropano y extrapolar los resultados obtenidos por la oxidación de la muestra como si fuesen de MDA.

Para el ensayo se homogeneizaron 5 gramos de muestra en 15 ml de  $\text{HClO}_4$  0,38 M durante 3 min en baño de hielo para evitar el sobrecalentamiento de la muestra. Acto seguido, se añadieron 0,5 ml de una solución de BHT 0,19 M en etanol para evitar la oxidación de los ácidos grasos durante el análisis. Se volvió a homogeneizar la muestra durante 1 min en baño de hielo, se centrifugó el homogeneizado (3000 g, 5 min, 5°C) y el sobrenadante se filtró a

través de un papel Whatman nº 54. También se preparó un blanco al que se añadieron 5 ml de  $\text{HClO}_4$ , en lugar de los 5 gramos de muestra.

Una vez realizada la extracción, se tomaron 0,7 ml de esta disolución y se le añadieron otros 0,7 ml de una disolución 0,02 M de ácido 2-tiobarbitúrico. La mezcla se hirvió a  $100^\circ\text{C}$  durante 30 min en un tubo eppendorf doblemente perforado con una aguja para evitar su apertura por la expansión del contenido. A continuación se dejó enfriar y se centrifugó a 3000 g y  $5^\circ\text{C}$  durante 15 min. Por último, se midió la absorbancia del sobrenadante, a 532 nm, utilizando agua destilada como blanco.

El índice TBARS (mg de MDA / kg de producto fresco) se calculó según la fórmula descrita por Witte y col. en 1970:

$$\text{TBARS} = \text{Abs.muestra}_{532\text{nm}} \times (\text{n}^\circ \text{ moles TEP en A/Abs.A}_{532\text{nm}}) \times \text{Pm MDA} \times 10^6/\text{E}$$

Donde: A: punto de la recta patrón con mayor absorbancia.

Pm MDA: peso molecular del malondialdehído.

E: gramos de muestra en 0,7 ml (0,175 g).

Dada la heterogeneidad de las muestras, los análisis se realizaron por triplicado.

### 2.1.3. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO PROTEICO

Se empleó el método Kjeldahl, recogido por la AOAC (1995).

Primeramente, se trocearon y pesaron 1-3 gramos de muestra, que se llevaron a un tubo Kjeldahl de digestión. En éste se añadieron 3-4 perlas de vidrio, 1 pastilla de 5 gramos de catalizador (sulfato potásico al 99,9% y selenio al 0,1%) y 25 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 96%. Además, se preparó un blanco del mismo modo que el del mencionado tubo pero sin la muestra. De aquí en adelante, este tubo con blanco será tratado de igual manera que el tubo con muestra.

Una vez cargado, se llevaron ambos tubos a un digestor Kjeldahl donde se calentaron a 350-400°C durante 4 horas. Tras la digestión, se enfriaron sus respectivos contenidos a temperatura ambiente y se les añadieron un par de gotas de indicador (0,2% de rojo de metilo y 0,1% de azul de metileno en etanol al 96%, protegido de la luz hasta su uso). A continuación, se trasladaron los tubos a una unidad de destilación Kjeldahl donde se sometieron la muestra y el blanco a la acción de 45 ml de una solución de hidróxido sódico al 40%. Cada destilado resultante se recogió en un matraz de Erlenmeyer con 25 ml de una solución de ácido bórico al 4%. La destilación continuó hasta alcanzar un volumen de 200 ml. Como etapa final se procedió a una titulación del borato amónico resultante con ácido clorhídrico 0,5 N. La titulación finalizó con un viraje de color del verde al violeta al formarse ácido bórico a partir del borato amónico.

Los cálculos efectuados para hallar el nitrógeno total fueron:

$$\% \text{ Nitrógeno total} = (V_1 - V_2) \times P_m \times N \times 100 / P$$

Donde:  $V_1$ : volumen de ácido clorhídrico gastado en la valoración de la muestra (ml)

$V_2$ : volumen de ácido clorhídrico gastado en la valoración del ensayo en blanco (ml)

$P_m$ : peso molecular del nitrógeno: 14,007

$N$ : normalidad del ácido clorhídrico

$P$ : peso de la muestra (mg)

Para calcular la proteína total, se multiplicó el nitrógeno total por el factor 6,25:

$$\% \text{ Proteína total} = 6,25 \times \% \text{ nitrógeno total}$$

#### 2.1.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA

Se llevó a cabo según las indicaciones de la AOAC (1995). Las cápsulas de porcelana utilizadas para las pesadas se deshidrataron

antes en una estufa a 110°C durante dos horas y se dejaron enfriar en un desecador a vacío de vidrio cargado con gel de sílice activado. Se partió de muestras de entre 2,00 y 2,02 gramos, que se trituraron en una picadora eléctrica. Se pesaron en una balanza de precisión y se deshidrataron en la anterior estufa a 110°C hasta peso constante, aproximadamente después de 48 horas. Las muestras deshidratadas se enfriaron en el desecador a vacío de vidrio durante 20 min y se pesaron en la mencionada balanza de precisión. El contenido de agua se determinó por diferencia entre el peso de la muestra fresca y el de la muestra desecada, una vez alcanzado el peso constante. El extracto seco se calculó restando el contenido de agua del peso del producto cárnico.

Las muestras se analizaron por duplicado.

#### **2.1.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA ( $a_w$ )**

El valor de la  $a_w$  se obtuvo a una temperatura de 25°C. En los análisis se emplearon muestras frescas troceadas de unos 2 gramos. Éstas, se colocaron en cápsulas de plástico que se introdujeron en la cubeta de un medidor de actividad de agua. Al cabo de 3-4 min, el aparato proporciona la lectura de la  $a_w$  y de la temperatura a la que se efectuó el ensayo. Previamente, se comprobó la exactitud de las determinaciones con soluciones salinas saturadas de  $a_w$  conocida (Labuza y col. 1976).

En ambos casos, las mediciones se realizaron por triplicado.

#### **2.1.6. DETERMINACIÓN DEL pH**

Se homogeneizó 1 gramo de muestra en 9 ml de agua destilada durante 1 min. Se determinó su pH mediante un pH-metro calibrado con dos tampones de referencia (pH 7,0 y 4,0). Dado el carácter heterogéneo del producto, se tomaron tres muestras y cada una se analizó dos veces. El electrodo se limpió con etanol y con agua Milli Q

entre cada muestra, tras la última y antes de la utilización del pH-metro, ya fuera para calibrarlo o para efectuar ensayos.

### **2.1.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO MINERAL TOTAL**

Para hallar el porcentaje de ceniza, se aplicó el método de la AOAC (1995). Se pesaron 5 g de muestra en una cápsula de porcelana previamente desecada y tarada. La cápsula se introdujo en un horno mufla a 550°C hasta la incineración completa de la muestra. Una vez redujo su temperatura, la cápsula se introdujo en un desecador a vacío para evitar la captación de humedad durante el completo enfriamiento. Cuando llegó a temperatura ambiente, se pesó para calcular la cantidad total de cenizas por diferencia con la cápsula vacía previamente tarada.

### **2.1.8. ANÁLISIS DE TEXTURA**

#### **2.1.8.1. Preparación de las muestras**

Para el ensayo de compresión, las muestras se cortaron con cuchillos. Su forma y tamaño quedaron definidos en base a un molde de referencia, apropiado para la sonda de compresión. Dado el menor grosor requerido para la actuación de la sonda de corte, las muestras se obtuvieron en una cortadora de fiambre. De cada pieza muscular se prepararon 5 muestras, o más. Se consideró conveniente realizar las determinaciones analíticas al menos por quintuplicado, dado el carácter heterogéneo del jamón. Se desarrollaron dos tipos de análisis: compresión (TPA) y corte.

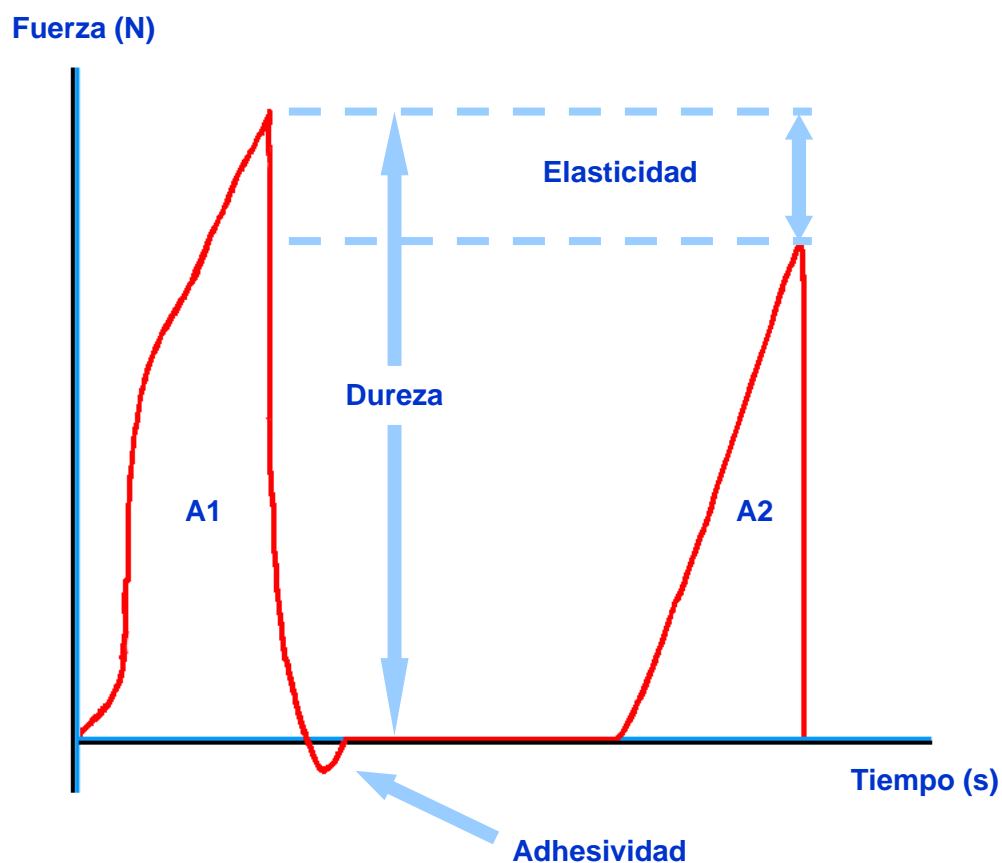
#### **2.1.8.2. Ensayo de compresión (TPA)**

El análisis de compresión o análisis del perfil de textura (TPA), (Bourne, 1978; Szczesniak, 1986) constituye una de las principales técnicas instrumentales para medir las propiedades mecánicas de los alimentos. Este ensayo consiste en comprimir una muestra mediante una sonda sobre una superficie plana para conseguir una deformación



de un 50% con respecto a la altura inicial de la muestra (compresión del 50%). La compresión se realizó dos veces sucesivas con el objeto de simular la actividad de la mandíbula humana durante la masticación. De esta manera, se obtiene una gráfica en la que quedan representadas la fuerza aplicada (ordenadas) en función del tiempo (abscisas). En la figura M.5. se muestra la gráfica de compresión típica de un jamón.

**Figura M.5. Modelo de gráfica resultante de la compresión de una muestra.**



De dicha gráfica se pueden extraer los siguientes parámetros:

- Dureza: definida como la altura máxima de la gráfica obtenida en el primer ciclo de compresión; representa la

fuerza máxima (N) necesaria para producir una cierta deformación.

- Adhesividad: es el área negativa de la gráfica tras producirse el primer ciclo de compresión; representa la fuerza necesaria (N X s) para separar la superficie compresora de la sonda, de la muestra después de haberla sometido a la compresión inicial.
- Elasticidad: es el área recuperada por la muestra entre el final de la primera compresión y el principio de la segunda; representa la capacidad de la muestra de retornar a su forma original tras ser sometida a una fuerza. Su valor se calcula por la diferencia, en metros (m), entre las alturas resultantes de la primera y la segunda actuación de la sonda.
- Cohesividad: es la relación entre el área positiva obtenida durante la segunda compresión y la obtenida durante la primera ( $A_2/A_1$ ); representa el grado en que una muestra puede deformarse sin llegar a la ruptura. A diferencia de los demás parámetros, éste es adimensional.
- Gomosidad: se define como el producto entre la dureza y la cohesividad; representa la fuerza necesaria (N) para desintegrar una muestra antes de su deglución.
- Masticabilidad: es el producto entre la gomosidad y la elasticidad (producto de la dureza por la cohesividad y por la elasticidad); representa el trabajo (medido en julios, J) necesario para masticar una muestra y que quede lista para su deglución.

Con anterioridad al análisis de las muestras, se efectuó la calibración de la fuerza, empleando una pesa de 5 kg y la sonda de compresión que se iba a utilizar para las determinaciones. Así, se establecieron las siguientes condiciones:

- Velocidad de la sonda en la compresión: 2,0 mm / s.

- Velocidad de la sonda en la subida: 10,0 mm / s.
- Grado de compresión de la muestra: 50%.

### **2.1.8.3. Ensayo de corte**

Al igual que el ensayo de compresión, el de corte (Bourne, 1978) es bastante común en la valoración de las propiedades mecánicas de la carne y de los productos cárnicos. Se asocia con frecuencia a la medida de la "terneza", determinando la fuerza necesaria para cortar la muestra que se pretende analizar.

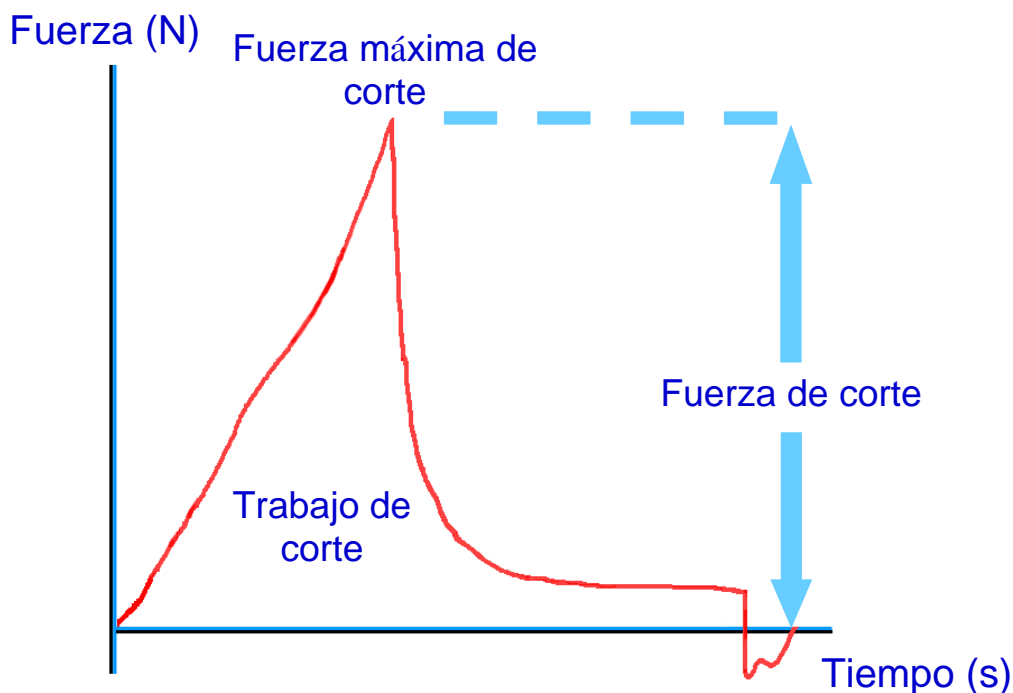
En el ensayo se hizo descender la sonda, atravesando la muestra hasta la placa perforada sobre la que se encontraba la misma. El análisis dio lugar a una gráfica simple en la que se representó la fuerza aplicada (ordenadas) frente al tiempo (abscisas). De dicha gráfica (figura M.6.) se obtuvieron los siguientes parámetros:

- Fuerza máxima de corte (N): se define como el pico más alto de la gráfica producido al cortar la muestra; representa la fuerza máxima necesaria para seccionar la muestra.
- Trabajo total de corte (J): es el área de la gráfica generada por la actuación de la sonda de corte.

La calibración de la fuerza se realizó como en el ensayo de compresión, con una pesa de 5 kg y la sonda específica para este tipo de ensayos. Se establecieron como condiciones de ensayo:

- Velocidad de la sonda en el corte: 1,5 mm / s.
- Velocidad de la sonda en la subida: 10 mm / s.
- Distancia recorrida por la sonda tras entrar en contacto con la muestra: 3,5 cm.

Figura M.6. Modelo de gráfica resultante de un ensayo de corte.



## 2.1.9. DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

### 2.1.9.1. Preparación de los ésteres metílicos

Se partió de los ácidos grasos obtenidos en la determinación del contenido lipídico de las muestras (ver apartado 2.1.1.), los cuales se metilaron de acuerdo a la técnica de Sandler y Karo (1992): 0,25 g de grasa se introdujeron en un matraz y se disolvieron en 2 ml de hexano, a los que se añadieron 5 ml de metilato sódico (solución de 5 g de sodio metálico en 1 litro de metanol absoluto) y 7-10 perlas de vidrio, para después proceder a su calentamiento hasta ebullición. A continuación se añadieron 5 ml de una mezcla de ácido sulfúrico y metanol (5/95, v/v) y se calentó a ebullición durante 10 min.

Después, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se adicionaron 2 ml de éter de petróleo (50-70%), agitando la mezcla suavemente durante 1-2 min. El contenido del matraz, salvo las perlas de vidrio, se transfirió a un tubo de centrifuga, añadiéndose 1 ml de agua destilada y otro de éter de petróleo. Tras centrifugar 5 min a 1000 g, se recogió la fase superior, donde se encuentran los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Esta última centrifugación definió con más precisión las 2 fases aunque éstas ya eran apreciables después de añadir el éter de petróleo.

#### **2.1.9.2. Condiciones cromatográficas**

Los ésteres metílicos obtenidos, se analizaron en un cromatógrafo Perkin Elmer mod. 8420. Dicho aparato estaba equipado con un inyector split/splitless de vaporización con temperatura programable (PTV); un horno que también permitía programar su temperatura, un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Innovax (30 m x 0,32 mm), con fase estacionaria de polietilenglicol Hewlett Packard (con un diámetro de partícula de 0,25  $\mu\text{m}$ ).

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

- Programa de temperaturas del horno: temperatura inicial de 170°C y final de 240°C con un incremento (o "rampa") de 3,5°C / min.
- Temperatura del inyector y del detector: 250°C.

Los ácidos grasos se expresaron como porcentaje relativo sobre el total de ácidos grasos de la muestra. Se empleó, como modelo de comparación, el patrón de ácidos grasos mencionado en el apartado 1.2.2.1.

#### **2.1.10. ESTIMACIÓN INSTRUMENTAL DEL COLOR**

El color se midió con un colorímetro triestimular Minolta mod. CR-300. Se utilizó el sistema CIELAB, basado en las coordenadas

cromáticas: L\* (luminosidad), a\* (zona entre el rojo y el verde) y b\* (zona entre el amarillo y el azul).

La medida del color se realizó un elevado número de veces a 25°C y en condiciones de luz natural. Con el objeto de observar la evolución del color a lo largo de un mismo día, se realizaron lecturas a intervalos regulares de 0, 4 y 24 horas.

#### **2.1.11. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA VITAMINA E**

La determinación de la concentración de  $\alpha$ -tocoferol se basó en el método de Rey y col. (1997).

##### **2.1.11.1. Extracción de la vitamina E**

Se homogeneizaron 0,8 g de producto en 3 ml de tampón de fosfato sódico 0,054 M -ajustado a pH 7,0 con ácido clorhídrico- durante 30 segundos en un baño de hielo. La homogeneización se repitió dos veces y en cada una se añadieron 3 ml y 3,2 ml de tampón, respectivamente. Del volumen total obtenido (10 ml) se tomaron 2 ml que se llevaron a un tubo de ensayo, donde se mezclaron con 3 ml de etanol absoluto. La mezcla se agitó durante 30 segundos y, a continuación, se añadió 1 ml de hexano para volver a agitarse. La mezcla se centrifugó a 1000 g, tras lo cual se recogió la fase superior con una pipeta *pasteur*. Dicha fase se evaporó mediante corriente de nitrógeno y se disolvió en 200  $\mu$ l de etanol para su posterior análisis. Durante todo el proceso de extracción se trabajó con poca luz y con materiales opacos para evitar fenómenos de fotodegradación.

##### **2.1.11.2. Detección, identificación y cuantificación de la vitamina E**

Se realizó de la misma manera que en los piensos experimentales: se inyectaron 25  $\mu$ l de muestra en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Beckman Instruments mod. System Gold dotado de una columna Lichrcart PR 18 (250 mm x 4 mm y 5  $\mu$ m de

tamaño de partícula). El análisis se realizó de forma isocrática con una fase móvil de metanol/agua (97:3, v/v) a un flujo de 2 ml/min. La detección se realizó mediante un detector ultravioleta a 292 nm. La identificación y cuantificación se efectuó comparando los tiempos de retención y las áreas con el correspondiente patrón.

## **2.2. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL ANÁLISIS SENSORIAL**

### **2.2.1. PANEL DE CATADORES**

Se seleccionaron como jueces a 15 miembros del Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Todos ellos eran catadores no entrenados pero muy acostumbrados al análisis sensorial de productos cárnicos.

Previamente a la realización del análisis, se les expuso en detalle el tipo de prueba que iban a llevar a cabo y el modo en que ésta se debía efectuar. Durante los ensayos, se entregó a cada catador las hojas de respuesta correspondientes, en las que figuraban las instrucciones para realizar los análisis y expresar los resultados obtenidos en los mismos. El número máximo de pruebas consecutivas que efectuó cada catador fue de tres, con el fin de evitar posibles fenómenos de saturación.

### **2.2.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

En el caso de los jamones curados, se emplearon los músculos *Biceps femoris* y *Semitendinosus* / *Semimembranosus* que se lonchearon en una cortadora de fiambre para obtener piezas de 1 mm de espesor, intentando que fuesen lo más homogéneas posibles. De cada músculo se extrajeron cuatro lonchas que se depositaron en una misma placa de Petri y se mantuvieron durante media hora a temperatura ambiente hasta su análisis por los jueces. Las placas se rotularon con números de tres dígitos aleatorios para su identificación.

En los jamones cocidos, las muestras no se refirieron a ningún músculo en particular dado que el producto era muy homogéneo. Su obtención y presentación fue análoga a las de los jamones curados.



En los lomos curados las muestras se extrajeron del único músculo que constituía la pieza, es decir, del *Longissimus dorsi*. Su obtención y presentación fue análoga a las de los jamones curados.

Los catadores dispusieron siempre de agua y biscotes de pan sin sal para evitar interferencias por sabores residuales entre cada muestra.

### **2.2.3. PRUEBA TRIANGULAR**

Con el fin de conocer si existían diferencias sensoriales entre las muestras, se realizó una prueba triangular de acuerdo con la Norma TC 34/SC 12 de la ISO (ISO 1981b).

En ella, cada catador deberá identificar en un trío de muestras codificadas (dos son iguales y una diferente) cuál es distinta. La probabilidad de acertar por azar es de 1/3.

En un mismo día no se llevaron a cabo más de tres análisis triangulares, para así evitar la saturación de la capacidad degustadora de los catadores.

La identificación de cada placa se realizó mediante números de tres dígitos aleatorios, distintos de un ensayo a otro. De esta manera, se evitaban posibles interferencias. Se obviaron aquellos números que pudieran tener connotaciones psicológicas. Además, los números de las placas eran distintos según la cabina en la que se realizara el análisis.

Los ensayos se realizaron con luz blanca ya que no solo se pretendía evaluar la textura, el sabor y el olor de las muestras, sino también su color. Antes de probar cada muestra, inclusive la primera, los catadores tomaron un poco de pan y se enjuagaron la boca con agua. Después, procedieron a tachar en la hoja de respuestas el número de la muestra que ellos consideraron diferente. El nivel de significación y su probabilidad estadística se obtuvieron a partir de las tablas especificadas en la mencionada Norma ISO, tomando en

consideración el número total de jueces catadores que participaron y el total de aciertos que tuvieron en cada prueba.

#### **2.2.4. PRUEBA PREFERENCIAL**

Se siguieron las especificaciones de Lyon y col. (1992).

Al igual que en el análisis triangular, las placas se rotularon utilizando números de tres cifras elegidas al azar. Se obviaron aquellos que pudieran influir en las valoraciones. Dichos números fueron distintos según la cabina y la muestra, para evitar interferencias entre ensayos.

El ensayo se desarrolló mediante un método de calificación basado en una escala no estructurada. Cada catador cumplimentó una hoja de respuestas en la que se le solicitaba que calificara olor, color, sabor y textura sobre una línea recta horizontal de 10 cm que valoraba cada atributo desde "muy desagradable", en el extremo izquierdo, hasta "muy agradable" en el derecho y desde "muy blando" a "muy duro" en el caso de la textura. Para ello trazaron una línea perpendicular a la horizontal en el punto que consideraban más conveniente. Lo primero que se valoró fue el color bajo la luz blanca de la cabina y sin abrir la placa, a continuación el olor abriendo la placa ligeramente cerca de la nariz y por último la textura y el sabor del producto.

Una vez expresados los resultados, se obtuvo su valor numérico midiendo con una regla la posición de la línea vertical trazada por cada catador.

La aceptabilidad general se calculó a partir de la siguiente fórmula (Bruna y col., 2002):

$$\text{Aceptabilidad general} = (\text{color} \times 0,1) + (\text{olor} \times 0,15) + (\text{sabor} \times 0,5) + (\text{textura} \times 0,25)$$

## **2.3. METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se recalcularon las medias y las desviaciones típicas de los resultados obtenidos y se utilizó el análisis de varianza ANOVA para estimar variaciones medias entre grupos. Para determinar si las diferencias eran estadísticamente significativas, se empleó el test de Duncan.

# RESULTADOS

“La ciencia son hechos; de la misma manera que las casas están hechas de piedras, la ciencia está hecha de hechos; pero un montón de piedras no es una casa y una colección de hechos no es necesariamente ciencia”.

Henri Poincaré



## **ARTÍCULO I**

**Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on  
pork tenderloin (*Psoas major*) muscle.**

**Meat Science. 2003. 65 (3), 1039-1044.**



## Effect of dietary linseed oil and $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle

L. Hoz<sup>a</sup>, C.J. Lopez-Bote<sup>b</sup>, M.I. Cambero<sup>c</sup>, M. D'Arrigo<sup>a</sup>, C. Pin<sup>a</sup>,  
C. Santos<sup>a</sup>, J.A. Ordóñez<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Nutrición y Bromatología III (Higiene y Tecnología de los Alimentos), Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

<sup>b</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

<sup>c</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

Received 10 July 2002; received in revised form 26 November 2002; accepted 26 November 2002

### Abstract

The effect of linseed oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on the fatty acid composition and the susceptibility to oxidation of lipid fraction from pork tenderloin (*Psoas major*) muscle has been studied. Muscles were obtained from animals fed on diets with the same ingredients excepting the oil source [sunflower (C), linseed (L) and linseed and olive (1/1, w/w) (LO)] and  $\alpha$ -tocopherol [20 (C, L and LO) or 200 (LOE and LE) mg/kg diet]. The n-6/n-3 ratio in pork tenderloin was markedly modified by dietary linseed oil administration, which was due to the increase in the C18:3n-3 (and total n-3 fatty acids) and the decrease in the C18:2n-6 (and total n-6 fatty acids) contents ( $P < 0.05$ ). The  $\alpha$ -tocopherol content of tenderloin from batches LE and LOE was about 2.8 mg/kg of muscle, significantly greater ( $P < 0.05$ ) than about 0.7 mg/kg muscle found in tenderloin from pigs receiving C, L and LO. Dietary supplementation with  $\alpha$ -tocopheryl acetate markedly reduced tenderloin lipid oxidation from animals fed diets enriched in n-3 fatty acids (L or LO vs LE or LOE).

© 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Pig; Pork; Meat; Lipids; Linseed oil; Fatty acid;  $\alpha$ -Tocopherol

### 1. Introduction

Many years ago, it was already observed that pigs fed on a diet rich in soya beans gave rise to a soft and oily body fat, which was due to the accumulation of linoleic acid (Ellis & Isbell, 1926a, 1992b). Afterwards, many reports have been published on the degree to which dietary fat and/or oil containing raw material influence the fatty acid content of pork fat (Brooks, 1971; Chung & Lin, 1965; Leat, Cuthbertson, Howard, & Gresham, 1964; Villegas, Hedrich, Veum, McFate, & Bailey,

1973). However, in human being the differences in the physiological effects of the n-3 and n-6 chemical families of long chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs) were unknown before 1980. Nowadays, there are many evidences derived from epidemiological, clinical and biochemical studies that n-3 PUFAs exert a protective effect against some common cancers such as breast, colon and perhaps, prostate (Rose & Connolly, 1999), reduce some cardiovascular disease, improve rheumatoid arthritis and inflammatory bowel diseases and minimise episodes of rejection (Alexander, 1998). Furthermore, it is well established that the content of n-6 PUFAs in the occidental human diet has dramatically increased to reach a value of about 30 g/day (Leaf & Weber, 1987), which has provoked the n-6/n-3 PUFAs ratio in today's diet achieving values of 20-30:1 whereas 1-2:1 was the ratio at the time when the human genetic code was established in response to diet (Simopoulos, 1994).

**Abbreviations:** C, control diet; L, linseed oil diet; LE, linseed oil and vitamin E diet; LO, linseed oil and olive oil diet; LOE, linseed oil, olive oil and vitamin E diet; MDA, malonaldehyde; MUFA, mono-unsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; SFA, saturated fatty acids.

\* Corresponding author. Tel.: +34-9-394-3745; fax: +34-9-1394-3743.

E-mail address: pereda@vet.ucm.es (J.A. Ordóñez).



Some international agencies (British Nutrition Foundation, 1992; D.H., 1994) related with human health have considered the benefits of dietary long chain n-3 PUFAs, establishing a n-6/n-3 PUFAs ratio of less than 4 to improve the health status of humans. For this reason, many efforts have been made to increase by diet manipulation the n-3 fatty acid composition in rabbits (Lopez-Bote, Rey, Sanz, Gray, & Buckley, 1997), poultry (Chanmugam et al., 1992), pig (D'Arrigo, Hoz, Lopez-Bote, Cambero, Pin & Ordóñez, 2002a; D'Arrigo et al., 2002b; Enser, Richardson, Wood, Gill, & Sheard 2000) and, also, ruminants (Ponnampalam, Sinclair, Egan, Ferrier, & Leury, 2002). The main problem of increasing n-3 fatty acids in pig meat may arise from a higher susceptibility to lipid oxidation (Leskanich, Matthews, Warkup, Noble, & Hazzledine, 1997).

The objective of this work was to obtain pig tissues with an increased concentration of n-3 fatty acids and a controlled lipid oxidation. In previous articles (D'Arrigo et al., 2002a, 2002b) results have been reported concerning pig liver and adipose tissue. The present one deals with similar experiences referred to as tenderloin (*Psoas major*) muscle. To modify the muscle fatty acid composition, animals were fed with diets enriched in n-3 fatty acids from linseed oil or linseed and olive oil. Lipid oxidation was limited by the use of dietary tocopheryl acetate.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental design

Fifty Large White×Great York female pigs were randomly distributed and located in individual cages at approximately 25 kg and fed a conventional pig diet until they weighed  $48.1 \pm 3.5$  kg. At this moment, 10 pigs were randomly assigned to five experimental diets (10 pigs each). All pigs were fed ad libitum for 8 weeks.

Ingredients, chemical composition and fatty acids of experimental diets are shown in Table 1. Dietary fat sources were sunflower oil (a fat rich in C18:2n-6) for the control diet (C), linseed oil (L, rich in C18:3n-3) and a blend (1/1) (v/v) of linseed oil and olive oil (LO, the later being rich in C18:1n-9). For the experimental diets, within each dietary fat treatment containing linseed oil (batches L and LO), one group (10 animals) of each (LE y LOE) received a supplemented level (200 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate  $\text{kg}^{-1}$  diet) of vitamin E (Hoffman La Roche, Switzerland), while the others (L, LO) and the control (C) were fed a basal level of this vitamin as  $\alpha$ -tocopheryl acetate (20 mg  $\text{kg}^{-1}$  diet). Determination of feed composition was carried out according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) procedures (AOAC, 1995).

### 2.2. Slaughter, sample collection and chemical analysis

Animals were stunned, slaughtered and esanguinated at a local slaughterhouse. At 24 h *post-mortem*, tenderloin (*Psoas major*) muscle from the left hand side of the carcass was removed and, after immediately vacuum packed in low-oxygen permeable film, kept at  $-22^\circ\text{C}$ , pending analysis. Protein (Kjeldhal nitrogen), moisture

Table 1  
Ingredients, chemical composition and calculated metabolizable energy of experimental diets

	Diets <sup>a</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
<i>Ingredients (g kg<sup>-1</sup> of diet)</i>					
Barley	505	505	505	505	505
Wheat	206	206	206	206	206
Soybean (47% crude protein)	231	231	231	231	231
Sunflower oil	30	—	—	—	—
Linseed oil	—	30	30	15	15
Olive oil	—	—	—	15	15
Sodium chloride	4	4	4	4	4
Calcium carbonate	7	7	7	7	7
Bicalcium phosphate	12	12	12	12	12
Lys supplement (20%)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Vitamin and mineral premix <sup>b</sup>	5	5	5	5	5
Bht	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
$\alpha$ -Tocopheryl acetate (50%)	—	—	0.4	—	0.4
Calculated energy (mj kg <sup>-1</sup> )	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2
<i>Proximate analysis</i>					
Dry matter (dm, g kg <sup>-1</sup> feed)	890	889	893	888	892
Crude protein (g kg <sup>-1</sup> dm)	178	176	177	175	178
Crude fat (g kg <sup>-1</sup> dm)	51	51	50	47	49
Crude fiber (g kg <sup>-1</sup> dm)	39	41	43	45	40
$\alpha$ -Tocopherol (g kg <sup>-1</sup> dm)	24	31	263	37	256
<i>Fatty acid composition (g kg<sup>-1</sup> dm)</i>					
C16:0	3.6	3.7	4.6	4.2	3.4
C16:1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.5
C18:0	1.2	1.5	1.4	1.3	1.0
C18:1	7.4	7.0	7.7	14.6	13.9
C18:2	22.0	9.2	9.6	8.3	8.6
C18:3	0.6	13.7	14.1	7.3	7.7
SFA <sup>c</sup>	4.8	5.3	6.1	5.5	4.3
MUFA <sup>c</sup>	7.6	7.4	8.1	15.1	14.4
PUFA <sup>c</sup>	22.5	22.9	23.7	15.7	16.3
Total fatty acids (g kg <sup>-1</sup> dm)	35.0	35.5	37.8	36.8	35.1

<sup>a</sup> Means diets containing C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>).

<sup>b</sup> Vitamin mineral premix provided (per kilogram of diet): vitamin A, 8000 U.I.; vitamin D<sub>3</sub>, 2000 U.I.; vitamin E, 10 U.I.; menadione, 0.7 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 0.6 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 3.0 mg; niacin, 15 mg; pantothenic acid, 7 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 12  $\mu$ g; choline, 100 mg; Fe, 60 mg; Cu, 7 mg; Zn, 45; Mn, 5.0; Se, 0.15 mg; I, 0.2.

<sup>c</sup> SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

(oven air-drying method) and ash (muffle furnace) were analysed following AOAC (1995) procedure. Fatty acid,  $\alpha$ -tocopherol and oxidation analysis of muscle ( $n=10$ ) were carried out in duplicate within 3 weeks after slaughter.

The determination of  $\alpha$ -tocopherol (Rey, López-Bote, Soares, & Isabel, 1997), the lipid extraction (Hanson & Olley, 1963), the methylation (Sandler & Karo, 1992) and analysis of fatty acid methyl esters (D'Arrigo et al., 2002a, 2002b) and the susceptibility of lipid muscles to iron-induced lipid oxidation (Kornbrust & Mavis, 1980) are described in detail in previous papers (D'Arrigo et al., 2002a, 2002b).

### 2.3. Statistical analysis

Data were analysed using the General Linear Model of SAS (2001). Individual tenderloin were used as experimental units for analysis of all data. Differences between means were determined using the Duncan multiple range test. For the oxidation study, a repeated measures ANOVA was used to evaluate the effect of incubation time.

Correspondences analysis (SAS, 2001) was applied to transform the dimensional space of the fatty acids in a two dimensional space. All the samples were represented in the new dimensions to find out similarities between the fatty acid profiles of the different batches.

## 3. Results and discussion

No effect of dietary treatment was observed in water (about 72%), protein (about 20% of wet matter), fat (about 7.7%) and ash (about 1.2%) concentration in any tenderloin (data not shown).

The effect of experimental diets on tenderloin fatty acid composition is shown in Table 2. The concentration of C18:2n-6, the main n-6 fatty acid, and therefore, the total n-6 fatty acids were significantly ( $P<0.05$ ) higher in the control than in the other tenderloin from experimental animal groups. This result was expected as sunflower oil is a fat source rich in C18:2n-6. Dietary substitution of sunflower oil by either linseed oil (L and LE) or a combination of linseed and olive oil (LO and LOE) produced a significant decrease ( $P<0.05$ ) in total n-6 fatty acid concentrations and a concomitant increase in the total n-3 fatty acid concentration. Adding linseed oil to pig diets either as an only source of dietary fat (L and LE) or in combination with olive oil (LO and LOE) produced a higher ( $P<0.05$ ) in the C18:3n-3 and total n-3 fatty acid concentration. These results are in agreement with those reported previously (Enser et al., 2000). Pig may use C18:3n-3 for elongation and desaturation, which explains the moderate effect of dietary treatment observed on long chain

Table 2

Effect of dietary treatment on fatty acid composition (% of total fatty acids) of tenderloin (*Psoas major*) muscle<sup>a</sup>

Fatty acid <sup>b</sup>	Diets <sup>c</sup>					Pooled S.D. <sup>d</sup>
	C	L	LE	LO	LOE	
C12:0	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.019
C14:0	0.94	0.94	1.11	0.95	0.93	0.117
C16:0	21.63	20.97	22.75	21.58	21.73	1.098
C16:1 (n-9)	0.44a	0.35b	0.34b	0.39ab	0.42ab	0.045
C16:1 (n-7)	1.37	1.20	1.52	1.23	1.42	0.193
C18:0	11.81	14.06	13.35	13.67	12.93	1.243
C18:1 (n-9)	35.63	34.92	34.96	38.14	38.20	2.912
C18:2 (n-6)	22.70a	16.22b	14.50b	14.85b	15.25b	2.309
C18:2 (n-3)	0.03	0.05	0.06	0.05	0.04	0.152
C18:3 (n-6)	0.08	0.07	0.06	0.07	0.08	0.012
C18:3 (n-3)	1.27b	6.69a	7.50a	5.28a	4.82a	1.699
C18:4 (n-3)	0.08	0.09	0.08	0.08	0.11	0.019
C20:0	0.17	0.18	0.16	0.19	0.15	0.031
C20:1 (n-9)	0.82	0.67	0.65	0.70	0.63	0.101
C20:3 (n-9)	0.86b	0.59a	0.50a	0.51a	0.57a	0.072
C20:4 (n-6)	0.90	0.79	0.49	0.57	0.70	0.276
C20:4 (n-3)	0.18d	0.75ab	0.82a	0.60bc	0.53	0.123
C20:5 (n-3)	0.04b	0.07a	0.07a	0.05an	0.07	0.011
C22:1 (n-9)	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.018
C22:4 (n-6)	0.24	0.18	0.13	0.11	0.17	0.065
C22:5 (n-3)	0.33b	0.62a	0.50ab	0.48ab	0.58	0.121
C22:6 (n-3)	0.2	0.33	0.22	0.24	0.32	0.101
Total SFA <sup>b</sup>	34.62	36.22	37.44	36.47	35.81	1.951
Total MUFA	38.30	37.19	37.52	40.51	40.73	3.081
Total PUFA	26.91	26.44	24.92	22.90	23.24	3.798
n-6 dienoic	22.70a	16.22b	14.50b	14.85b	15.25b	3.309
n-6 PUFA	1.22	1.04	0.67	0.76	1.96	0.307
n-3 dienoic	0.03	0.05	0.06	0.05	0.04	0.015
n-3 PUFA	2.10b	8.55a	9.18a	6.73a	6.42a	1.769
Total n-3	2.13b	8.60a	9.24a	6.78a	6.46a	1.777
Total n-6	23.92a	17.25b	15.17b	15.61b	16.21b	2.293
n-6/ n-3	11.23a	2.01b	1.64c	2.30b	2.51b	0.924

<sup>a</sup> Means bearing different letters within the same row are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>b</sup> SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; n-6/n-3; ratio of n-6 to n-3 PUFA.

<sup>c</sup> Means diets containing C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopherol acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopherol acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>).

<sup>d</sup> S.D., Standard deviation.

n-3 PUFAs. So, clear differences were observed for C20:4n-3, which achieved a higher concentration ( $P<0.05$ ) in tenderloin from all experimental animal groups. No consistent changes were obtained for further elongation and desaturation products (20:5n-3, 22:5n-3 and 22:6n-3) although a trend to increase was detected in the C22:5n-3. Similar results for C22:6n-3 has been reported by Fontanillas, Barroeta, Baucells, and Guardiola (1998) and Riley, Enser, Nute, and Wood (2000) in muscle and adipose tissue of pigs fed diet containing linseed oil even in long term feeding trials. This result

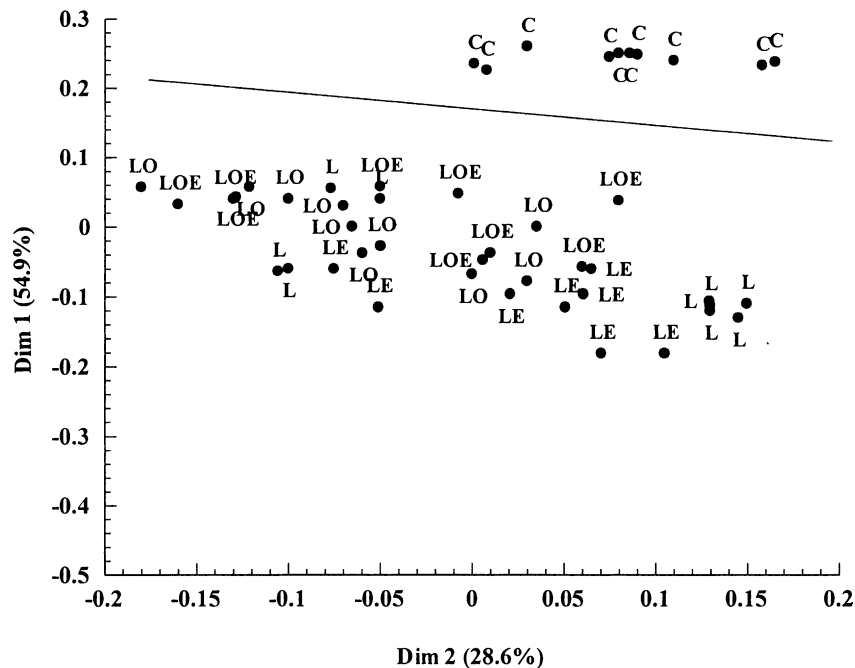


Fig. 1. Dimensions obtained by correspondence analysis of fatty acids profiles showing the discrimination among the different pork tenderloin (*Psoas major*) muscle of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)].

indicates a possible inhibition in the processes of desaturation (Rey, Kerry, Lynch, Lopez-Bote, Buckley, & Morrissey, 2001).

The n-6/n-3 ratio in pork tenderloin was markedly modified by dietary linseed oil administration, which was mainly due to the increase in the C18:3n-3 (and total n-3 fatty acids) and the decrease in the C18:2n-6 (and total n-6 fatty acids) contents (Table 2). It was possible to establish a hierarchy for PUFA n-6/n-3 ratio with Control (11.2) > LO, LOE (about 2.4) > LE, L (about 1.8). Additionally, the four experimental batches may be considered, from a nutritional point of view, healthier than the control one since all of them presented a n-6/n-3 ratio lower than 4 instead of 11.2 in the control, as recommended by nutritional authorities (British Nutrition Foundation, 1992).

Correspondence analysis resulted in two dimensions accounting for 54.9 and 28.6% of the total inertia, respectively. Fig. 1 shows that tenderloin batches were classified according to their fatty acid profiles in two groups, consisting in one group of samples of animal fed with diet C, other with samples of animal fed with experimental diets (LO, LOE, L and LE). Since the most abundant fatty acids (i.e. C16:0, C18:0 and C18:1n-9) presented similar concentrations, the differences groups above mentioned were mainly formed due to the levels of C18:2n-6 and C18:3n-3. In a previous paper (D'Arrigo et al., 2002b), the pork subcutaneous adipose tissue from animal fed with the same diets was classified in three different groups (C, L and LE and LO

and LOE) rather than two according to their fatty acid profiles. This disagreement may be due to the different response of the muscular and adipose tissue to the diet influence, which seems to be greater on adipose tissue than in muscular (Enser et al., 2000). These authors found that 14 adipose tissue fatty acids (of a total of 17) and only nine muscle (*longissimus lumborum*) fatty acids were affected by the diet.

The  $\alpha$ -tocopherol content (Fig. 2) of tenderloin from pigs fed diets supplemented with 200 mg kg<sup>-1</sup>  $\alpha$ -tocopheryl acetate (LE and LOE) was close to 3 mg/kg of

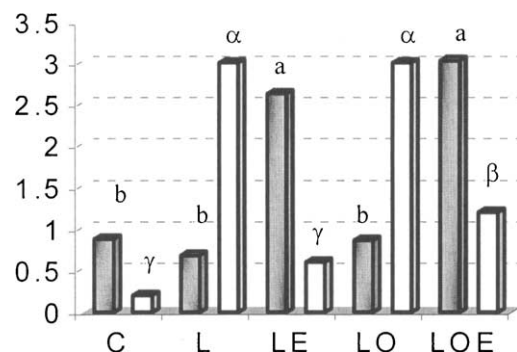


Fig. 2.  $\alpha$ -Tocopherol (■, mg/kg meat) content and peroxidation rate (□, nmol malonaldehyde 100 mg protein<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)]. a, b or  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ : bars with same colour and different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

muscle, significantly greater ( $P < 0.001$ ) than those concentration (less than 1.0 mg/kg muscle) found in tenderloin from pigs receiving a basal diet of 20 mg kg<sup>-1</sup> feed (C, L and LO), which is in general agreement with reports about muscle, liver, adipose (D'Arrigo et al., 2002a, 2002b; López-Bote & Rey, 2001; Miller, Huang, Fabb, & Rayner, 1998) and other tissues (Hoppe, Scöner, Wiesche, Stahler-Geyer, Kammer, & Hochadel, 1993; Miller et al., 1998).

The effect of experimental diets on susceptibility of tenderloin lipid fraction to oxidation assessed by induced peroxidation is also shown in Fig. 2. Dietary supplementation with  $\alpha$ -tocopheryl acetate markedly reduced tenderloin fat oxidation from animals fed diets enriched in n-3 fatty acids (LE or LOE). The higher the vitamin E concentration the lower the induced peroxidation rate (Fig. 2). So, the oxidation rate of tenderloin lipid from pigs fed on diets with high levels of supplementary vitamin E was one third (LOE vs LO) and one fifth (LE vs L) lower than those fed on L and LO. These differences among tenderloin groups were obviously due to the content of vitamin E. Similar results have been obtained in previous papers in subcutaneous adipose tissue and liver (D'Arrigo et al. 2002a, 2002b).

## Acknowledgements

This research was funded by The Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) with the project ALI- 98-0705 and Ministerio de Ciencia y Tecnología (Project AGL 2000-0050-P4-02). M. D'Arrigo was awarded a predoctoral scholarship of Agencia Española de Cooperación Internacional (MUTIS programme).

## References

- Alexander, J. W. (1998). Immunonutrition: the role of  $\omega$ -3 fatty acids. *Nutrition*, 14, 627–633.
- AOAC. (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- British Nutrition Foundation. (1992). *Unsaturated fatty acids: nutritional and physiological significance. The Report of British Nutrition Foundation's Task Force*. London: Chapman and Hall.
- Brooks, C. C. (1971). Fatty acid composition of pork lipids as affected by basal diet, fat source and fat level. *Journal of Animal Science*, 33, 1224–1231.
- Chanmugam, P., Boudreau, M., Boutte, T., Park, R. S., Hebert, J., Berrio, L., & Hwang, D. H. (1992). Incorporation of different types of n-3 fatty acids into tissue lipids of poultry. *Poultry Science*, 71, 516–521.
- Chung, R. A., & Lin, C. C. (1965). Fatty acid content of pork cuts and variety meats as affected by different dietary lipids. *Journal of Food Science*, 30, 860–864.
- D'Arrigo, M., Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, I., Pin, C., & Ordóñez, J. A. (2002a). Effect of dietary linseed oil on pig hepatic tissue fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation. *Nutrition Research*, 22, 1189–1196.
- D'Arrigo, M., Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, I., Pin, C., Rey, A. I., & Ordóñez, J. A. (2002b). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on selected properties of pig fat. *Canadian Journal of Animal Science*, 82, 339–347.
- D.H. (1994). *Nutritional aspects of cardiovascular review group committee on medical aspects of food policy*. Report on Health and Social Subjects. No 46. Department of Health. London.
- Ellis, N. R., & Isbell, H. S. (1926a). Soft pork studies II. The influence of the character of the ration upon the composition of the body fat of hogs. *Biological Chemistry*, 69, 219–238.
- Ellis, N. R., & Isbell, H. S. (1926b). Soft pork studies III. The effect of food fat upon body, as shown by the separation of the individual fatty acids of the body fat. *Journal of Biological Chemistry*, 69, 239–248.
- Enser, M., Richardson, R. I., Wood, J. D., Gill, B. P., & Sheard, P. R. (2000). Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages. *Meat Science*, 55, 201–212.
- Fontanillas, R., Barroeta, A., Baucells, M. D., & Guardiola, F. (1998). Backfat fatty acid evolution in swine fed diets high in either *cis*-monounsaturated, *trans* or (n-3) fats. *Journal of Animal Science*, 76, 1045–1055.
- Hanson, S. W. F., & Olley, J. (1963). Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochemical Journal*, 89, 101P–102P.
- Hoppe, P. P., Scöner, F. J., Wiesche, H., Stahler-Geyer, A., Kammer, J., & Hochadel, H. (1993). Effect of graded dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation on concentrations in plasma and selected tissues of pigs from weaning to slaughter. *Journal of Veterinary Medicine A*, 40, 219–228.
- Kornbrust, D. J., & Mavis, R. D. (1980). Relative susceptibility of microsomes from lung, heart, liver, kidney, brain and testes to lipid peroxidation: correlation with vitamin E content. *Lipids*, 15, 315–322.
- Leaf, A., & Weber, P. C. (1987). A new era for science in nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 45(Suppl.), 1048–1053.
- Leat, W. M. F., Cuthbertson, A., Howard, A. N., & Gresham, G. A. (1964). Studies on pigs reared on semisynthetic diets containing no fat, beef tallow and maize oil: composition of carcass and fatty acids composition of various depot fats. *Journal of Agricultural Sciences*, 63, 311–317.
- Leskanich, C. O., Matthews, K. R., Warkup, C. C., Noble, R. C., & Hazzledine, M. (1997). The effects of dietary oil containing (n-3) fatty acids on the fatty acid, physicochemical, and organoleptic characteristics of pig meat and fat. *Journal of Animal Science*, 75, 673–683.
- Lopez-Bote, C. J., Rey, A. I., Sanz, M., Gray, I., & Buckley, D. J. (1997). Dietary vegetable oils and  $\alpha$ -tocopherol reduce lipid oxidation in rabbit muscle. *Journal of Nutrition*, 127, 1176–1182.
- López-Bote, C., & Rey, A. I. (2001). Susceptibility of adipose tissue of Iberian pigs is enhanced by free-range feeding and reduced by vitamin E supplementation. *Nutrition Research*, 21, 541–549.
- Miller, E. L., Huang, Y. H., Fabb, O. C. & Rayner, B. (1998). Effect of n-6:n-3 ratio of dietary oils and vitamin E on  $\alpha$ -tocopherol content of liver, cardiac and skeletal muscle of pigs. In *Proceedings of 44th International Congress of Meat Science and Technology* (pp. 652–653). Spain: Barcelona.
- Ponnampalam, E. N., Sinclair, A. J., Egan, A. R., Ferrier, G. R., & Leury, B. J. (2002). Dietary manipulation of muscle long-chain omega-3 and omega-6 fatty acids and sensory properties of lamb meat. *Meat Science*, 60, 125–132.
- Rey, A., Lopez-Bote, C., Soares, M., & Isabel, B. (1997). Determination of  $\alpha$ -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331–334.

- Rey, A. I., Kerry, J. P., Lynch, P. B., Lopez-Bote, C. J., Buckley, D. J., & Morrissey, P. A. (2001). Effect of dietary oils and  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on lipid and cholesterol oxidation in cooked pork. *Journal of Animal Science*, 79, 1201–1208.
- Riley, P. A., Enser, M., Nute, G. R., & Wood, J. D. (2000). Effects of dietary linseed on nutritional value and other quality aspects of pig muscle and adipose tissue. *Animal Science*, 71, 483–500.
- Rose, D. P., & Connolly, J. M. (1999). Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 217–244.
- Sandler, S. R., & Karo, W. (1992). *Sourcebook of advanced organic laboratory preparations*. San Diego: Academic Press.
- SAS. (2001). Institute Inc., SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 8.2, Cary, NC.
- Simopoulos, A. P. (1994). Fatty acids. In I. Golberg (Ed.), *Functional Foods* (1st ed.) (pp. 355–392). New York: Chapman and Hall.
- Villegas, F. J., Hedrich, H. B., Veum, T. L., McFate, K. L., & Bailey, M. E. (1973). Effect of diet and breed on fatty acid composition of porcine adipose tissue. *Journal of Animal Science*, 36, 663–668.

## **ARTÍCULO II**

**Physicochemical characteristics of an  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched cooked ham.**

**Food Chemistry. 2004. 88 (1), 123-128.**





## Physicochemical characteristics of an $\alpha$ -linolenic acid and $\alpha$ -tocopherol-enriched cooked ham

C. Santos <sup>a</sup>, J.A. Ordóñez <sup>b,\*</sup>, I. Cambero <sup>b</sup>, M. D'Arrigo <sup>a</sup>, L. Hoz <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Nutrición Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

<sup>b</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne., Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

Received 1 August 2003; received in revised form 20 December 2003; accepted 20 December 2003

### Abstract

Five batches of cooked hams were manufactured using pork legs enriched in polyunsaturated  $n - 3$  fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol from animals fed on diets with the same ingredients excepting the oil source [sunflower oil (batch control, C), linseed oil (L), 1/1 w/w linseed and olive oil (LO) and 20 (C, L and LO) or 200 (LOE and LE) mg/kg diet of  $\alpha$ -tocopherol]. A final product was obtained enriched in  $n - 3$  fatty acids with a healthier polyunsaturated fatty acid  $n6/n3$  ratio ( $<3$ ) from all linseed oil-enriched batches than those of the Control (10.5). The only significant differences ( $p < 0.05$ ) found in cooked hams were in the fatty acid composition and the  $\alpha$ -tocopherol content.

© 2004 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Cooked ham; Fatty acid; PUFAs  $n - 6/n - 3$  ratio;  $\alpha$ -tocopherol

### 1. Introduction

From the classical article of Ellis and Isbell (1926) until now, many investigations have been conducted to establish the effect of fat in the diet on the fat and meat characteristics of pork (Brooks, 1971; Morgan, Noble, Cocchi, & McCartney, 1992; Skelley et al., 1975). Many of this investigations have focused on the effects of pig diet polyunsaturated fatty acids on pork lipid and fatty acid composition. These efforts have mainly evaluated the possibilities of pork tissue enrichment in  $n - 3$  polyunsaturated fatty acids (Ahn, Lutz, & Sim, 1996; Cheriam & Sim, 1995; Fontanillas, Barroeta, Baucells, & Codony, 1997; Romans, Johnson, Wulf, Libal, & Costello, 1995; Van Oeckel, Casteels, Warnants, Van Damme, & Boucquè, 1996; Van Oeckel, Casteels, Warnants, & Boucquè, 1997) because of the beneficial

effects, assigned to these fatty acids, on human health (Alexander, 1998; Rose & Connolly, 1999). Because of that, increase of the intake of  $n - 3$  PUFA foods has been recommended, establishing a  $n - 6/n - 3$  PUFAs ratio less than 4 (British Nutrition Foundation, 1992) to improve the health status of the humans. One approach to reach this goal is the enrichment of pork and other meat from monogastric animals (i.e. poultry, rabbits), with  $n - 3$  PUFA. However, the modification of the pork fat fatty acid composition may lead to a higher susceptibility to lipid oxidation, which could negatively influence the meat quality. It has been shown that pork enrichment with vitamin E is an effective approach for controlling the lipid oxidation of liver, lard and meat (D'Arrigo, Hoz, Lopez-Bote, Cambero, Pin, & Ordóñez, 2002a, 2002b; Hoz et al., 2003) and meat products (Chizzolini, Novelli, & Zanardi, 1998).

In an attempt to improve the nutritive characteristics (enrichment of the  $n - 3$  fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol) of cooked ham with minor modifications to the chemical and sensory characteristics, the present research was conducted to evaluate the possibility of using of pork legs enriched in  $n - 3$  fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol in the manufacture of this meat product.

*Abbreviations:* PUFAs, polyunsaturated fatty acid; TBARs, 2-thiobarbituric acid-reactive substances; TPA, texture profile analysis.

\*Corresponding author. Tel.: +34-913-943-744; fax: +34-913-943-743.

E-mail address: [pereda@vet.ucm.es](mailto:pereda@vet.ucm.es) (J.A. Ordóñez).



## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental design

Fifty Large White  $\times$  Great York female pigs were fed with five different diets (D'Arrigo et al., 2002a, 2002b). All diets were formulated with the same ingredients except for the fat source (30 g/kg in all cases) and  $\alpha$ -tocopherol. Dietary fat sources were sunflower oil (rich in C18:2n – 6) for the control diet (C), linseed oil (L, rich in C18:3n – 3) and a 1:1 (w/w) mixture of linseed oil and olive oil (LO, rich in C18:1n – 9). Within each dietary fat treatment containing L, one group, as the control, was fed a basal level (20 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg diet) of vitamin E (Hoffman La Roche, Switzerland), and the others received a supplemented level (200 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg diet) of vitamin E (batches LOE and LE).

Animals were stunned, slaughtered and exsanguinated at a local slaughterhouse at  $100.1 \pm 7.09$  kg live weight.

### 2.2. Preparation of the cooked ham

Five different batches of cooked ham were manufactured, each comprising 10 different hams. All the cooked hams were manufactured on the same day using similar technology, ingredients and formulation. At 48 h post-mortem, the left legs were taken from the carcass and they were deboned and skin, tendons and fatty tissues removed. The boneless legs were pumped to 120% of their green weight with a brine solution, using a multi-needle brine injector. The brine solution was composed (g/l) of: sodium chloride 125, dextrose 48, phosphate 18, ascorbate 6, carrageenane 6, sodium nitrate 0.90 and sodium nitrite 0.30. The injected legs were massaged for 30 min in a meat tumbler (14 r.p.m.) and then stored at 2 °C for 24 h. Afterwards, they were massaged again for 30 min and stored at 2 °C for 24 h. After a final massage of 10 min, the legs were placed in pear-shaped ham moulds. Samples were cooked in a wet hot oven at 82 °C for 4.5 h until a core temperature of 70 °C was reached. After cooling, cooked hams were longitudinally cut. One portion (time 0) was immediately analysed for physicochemical, texture, colour and sensorial characteristics and the other one was vacuum-packed and stored at 2 °C for one month (time 1), and the same parameters were determined.

After the analyses for colour, texture and sensorial determinations, the cooked ham samples (times 0 and 1) were vacuum-packed, frozen at –18 °C and kept until chemical analysis.

### 2.3. Chemical analysis

Protein (Kjeldhal nitrogen), moisture (oven air-drying method) and ash (muffle furnace) were analysed

following AOAC (1995) procedures. Water activity ( $a_w$ ) was determined using a Decagon CX1 hygrometer (Decagon Devices Inc., Pullman, WA) at 25 °C.

Concentration of  $\alpha$ -tocopherol was quantified as described by Rey, Lopez-Bote, Soares, and Isabel (1997). Analyses were carried out by reverse phase HPLC (HP 1050, Hewlett Packard, Waldbronn, Germany, equipped for separation with a C18 column RP-18, Hewlett Packard). The mobile phase was methanol:water (97:3 v/v) at a flow rate of 2 ml/min, and the detector was fixed at 292 nm.

Lipids of cooked ham were cold-extracted from the whole piece using the method of Hanson and Olley (1963) which involves the use of chloroform/methanol/water (1/1/1, v/v/v). Three hundred mg of lipids were methylated in the presence of 3 ml of sodium metal (0.1 N in methanol) and 3 ml of sulphuric acid (5% in anhydrous methanol) to obtain the fatty acid methyl esters (Sandler & Karo, 1992). The methyl esters were extracted with 3 ml of petroleum ether. Then, 1  $\mu$ l was analysed using a Hewlett Packard HP-5890 (Avondale, PA, USA) gas chromatograph equipped with a flame ionization detector and a capillary column HP-Innowax (30 m  $\times$  0.32 mm id and 0.25  $\mu$ m). Helium at 2.0 ml/min was used as the carrier gas and the split/splitless injector was used with a split/splitless ratio of 10/1. The temperature programme was as follows: injector and detector temperature 250 °C, the initial column temperature was 200 °C, which was kept for 2 min, 200–245 °C at 3.5 °C min<sup>–1</sup>, held for 7 min. Fatty acid methyl esters were identified by comparison with standards run previously.

Lipid oxidation of the cooked ham was determined using the 2-thiobarbituric acid method (TBARs) described by Salih, Smith, and Dawson (1987). For that, 5 g of sample were homogenised in 15 ml of 0.38 M HClO<sub>4</sub> for 3 min in an ice bath. To avoid further oxidation, 0.5 ml of a 0.19 M BHT ethanolic solution were added. The homogenate was centrifuged (3000g, 5 min, 5 °C) and filtered through Whatman No. 54 paper. An aliquot (0.7 ml) was mixed with the same volume of a 0.02 M TBA solution and heated at 100 °C for 30 min. After cooling, the mixture was centrifuged at 3000g for 15 min at 5 °C. Finally, the absorbance was measured at 532 nm. Results were expressed as mg malonaldehyde/kg sample.

### 2.4. Texture analysis

Texture profile analysis (TPA) was used to evaluate the sausage texture (Bourne, 1978; Szczesniak, 1986), using the Stable Micro System Mod. TA-XTZi Texture Analyser (Stable Micro Systems, Godalming, England) equipped with a cylindrical probe P/25. This procedure involved cutting samples approximately 1.5 cm high and 2.5 cm wide after discarding the external layer (2 cm) of

the ham piece. Samples were tempered at room temperature and then compressed twice to 50% of their original height. The following parameters were determined: hardness ( $N$ ), maximum force required to compress the sample ( $H$ ); springiness ( $m$ ), ability of sample to recover its original form after the deforming force was removed ( $S$ ); adhesiveness ( $N \times S$ ), area under the abscissa after the first compression; cohesiveness, extent to which the sample could be deformed prior to rupture ( $A2/A1$ ,  $A1$  was the total energy required for the first compression and  $A2$  the total energy required for the second compression); gumminess ( $N$ ), force to disintegrate a semisolid meat sample for swallowing ( $H \times$  cohesiveness); chewiness ( $J$ ), work to masticate the sample for swallowing ( $S \times$  gumminess). To determine the maximum cutting force and the cutting work (Bourne, 1978) a reversible probe calibrated with 5 kg was used. Thirty slices of cooked ham were used per batch in the texture analysis (three slices per ham and 10 hams per batch).

### 2.5. Colour measurement

Colour measurements of the cooked ham surface were obtained using a tristimulus colorimeter (Minolta Chroma Meter CR300, Minolta Corporation, NJ). The  $L^*$  – (brightness),  $a^*$  – (redness) and  $b^*$  – (yellowness) values were measured four times on the surface of the sausages at three different analysis times (freshly cut sausage, 4 and 24 h after cutting). After the first colour measurement, the samples were kept at room temperature without protection.

### 2.6. Sensory analysis

To determine the possible sensory differences among the cooked hams, a triangle test (ISO, 1981a) was conducted. The cooked hams were evaluated by a panel of 15 tasters selected among the members of the Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, who were previously trained in the sensory assessment of meat products. The evaluations were performed in individual booths built according to the criteria of the International Standards Organisation (ISO, 1981b). The tasters were given unsalted crackers and room temperature water to clean the palate between samples. To reduce fatigue, panel members conducted two sessions per day in which they were served four randomised samples per test session with a minimum of 1 h between sessions.

### 2.7. Statistical analysis

Data were analysed using the General Linear Model of SAS (2001). An individual ham was the experimental

unit for analysis of all data. The comparative analyses between means were conducted using the Duncan multiple range test. Data were presented as the means of each group and the standard deviation (SD) of the mean.

## 3. Results and discussion

In a previous paper (Hoz et al., 2003), the effect of pig diet enrichment in  $n - 3$  fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol on pig muscle has been described. Results indicated that the PUFA  $n - 6/n - 3$  ratio in pork tenderloin (*Psoas major*) was markedly modified by dietary linseed oil administration, which was due to the increase in the C18:3 $n - 3$  (and total  $n - 3$  fatty acids) content and the decrease in the C18:2 $n - 6$  (and total  $n - 6$  fatty acids) content ( $p < 0.05$ ). The  $\alpha$ -tocopherol level of the tenderloin was also dependent on diet concentration. In the present work, by using the raw pork legs from the same animals, we checked the use of this raw material in the production of cooked ham, taking into consideration the main physicochemical and sensory characteristics.

After the analysis of cooked ham from the five different experimental batches (C, L, LE, LO and LOE), vacuum stored for 0 and 1 month, no significant effect ( $p > 0.05$ ) of vacuum-storage time was found in any parameter (chemical composition, fatty acid composition, physical or sensorial characteristics). All data were the averages of values obtained from samples vacuum-stored for 0 and 1 month. No differences were observed ( $p > 0.05$ ) among the different cooked ham experimental batches in water, fat and ash contents, pH or water activity ( $a_w$ ). The following average values were found: moisture 74.5 (% wet matter), fat 6.4 (% wet matter), ash 2.9 (% wet matter), pH 5.9 and  $a_w$  0.980.

These figures were close to those described by Chan, Brown, Church, and Buss (1996) and Houben and Gerris (1998).

Several authors (Hoving-Bolink, Eikelenboom, van Diepen, Jongbloed, & Houben, 1998; Hoz et al., 2003) have previously observed that the addition of  $\alpha$ -tocopherol to the animal feedstuff gives rise to a vitamin E accumulation in the pig muscle. Accordingly, the  $\alpha$ -tocopherol contents (about 2.8 mg/kg wet matter) of cooked ham batches manufactured from legs of animals fed on diets supplemented with  $\alpha$ -tocopherol (batches LE and LOE) were about 3-fold higher than those observed in batches C, L and LO (about 0.9 mg/kg wet matter). These results are in agreement with those of similar work carried out by Houben and Gerris (1998) although the absolute values reported by these authors for the  $\alpha$ -tocopherol content of cooked hams from vitamin E-supplemented animals were slightly higher.

Although it has been described that the heat treatment reduces the vitamin E content in foods (Gregory,

1996) no losses were found by Liu, Scheller, Schaefer, Arp, and Williams (1994) in cooked ham manufacture. The same fate of the  $\alpha$ -tocopherol was observed in the present work since the contents of this compound in the different experimental cooked hams were similar to those of tenderloin (*Psoas major*) muscle from the same pigs (Hoz et al., 2003).

The TBARs values of cooked ham of all batches (C, L, LE, LO and LOE) were not affected ( $p > 0.05$ ) by either vacuum-storage or dietary treatment (data not shown). The TBARs mean values were about 0.2.

The fatty acid composition of experimental cooked hams is shown in Table 1. No effect of vacuum-storage of cooked ham was observed. In all batches, the major fatty acid was C18:1 $n$ –9, accounting for more than 40%. Significant differences ( $p < 0.05$ ) among batches were found for four fatty acids (C18:2 $n$ –6, C18:3 $n$ –6, C18:3 $n$ –3 and C20:4 $n$ –3). The enrichment of the animal diet with linseed or linseed and olive oil significantly increased ( $p < 0.05$ ) the percentage of C18:3 $n$ –3 (5–7-fold) and C20:4 $n$ –3 (4–5-fold). The total content

of the  $n$ –3 family fatty acids may be arranged as follows: L and LE > LO and LOE > C, which corresponded with the pig diet C18:3 $n$ –3 content (Hoz et al., 2003). The most abundant fatty acid of the  $n$ –3 family was the C18:3 $n$ –3, with values close to 5.1% in batches L and LE, about 3.3% in LO and LOE and 0.7% in C. Also, an important modification of the PUFAs  $n$ –6/ $n$ –3 ratio was observed with values decreasing from 10.5 (batch C) to about 2.6 (LO and LOE) and 2.0 (L and LE). The enrichment in  $n$ –3 fatty acids was concomitant with the decrease of the 18:2  $n$ –6 level.

No effect of the diet ( $p > 0.05$ ) on  $L^*$ -,  $a^*$ - and  $b^*$ - values of the cooked ham was observed just after cutting the samples for analysis. However, a clear influence of the air exposure after cutting (0, 4 and 24 h) was observed in all batches, which is usual in meat products (Perlo et al., 1995) although the colour changes after air exposure were similar in all the batches. In a similar study, dealing with the effect of dietary supplementation with vitamin E on colour stability of packed, sliced pasteurized ham, Houben and Gerris (1998) found, in

Table 1

Fat (% wet matter) and fatty acid composition (g/100 g total fatty acids) of the whole piece of experimental cooked hams<sup>a</sup>

	Experimental cooked ham <sup>a</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
Fat (% wet matter)	6.22 $\pm$ 1.12	5.96 $\pm$ 1.81	6.29 $\pm$ 1.36	6.74 $\pm$ 1.50	6.89 $\pm$ 1.97
Fatty acid (g/100 g total fatty acids)					
C12:0	0.10 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.04
C14:0	1.00 $\pm$ 0.15	0.93 $\pm$ 0.16	1.05 $\pm$ 0.05	0.97 $\pm$ 0.15	0.85 $\pm$ 0.20
C16:0	21.5 $\pm$ 1.03	21.3 $\pm$ 2.29	20.9 $\pm$ 1.46	20.9 $\pm$ 1.67	20.2 $\pm$ 1.24
C16:1 $n$ 9	0.39 $\pm$ 0.04	0.34 $\pm$ 0.05	0.34 $\pm$ 0.03	0.34 $\pm$ 0.03	0.34 $\pm$ 0.02
C16:1	1.96 $\pm$ 0.30	1.80 $\pm$ 0.32	2.26 $\pm$ 0.12	1.84 $\pm$ 0.43	1.64 $\pm$ 0.19
C18:0	11.2 $\pm$ 1.00	11.9 $\pm$ 2.22	10.9 $\pm$ 0.47	11.4 $\pm$ 1.13	13.5 $\pm$ 2.13
C18:1 $n$ 9/1 $n$ 7	42.5 $\pm$ 1.52	41.3 $\pm$ 3.83	42.7 $\pm$ 1.96	45.7 $\pm$ 2.37	44.2 $\pm$ 1.78
C18:2 $n$ 6	16.7 $\pm$ 2.68a	13.0 $\pm$ 0.76b	12.4 $\pm$ 0.95b	11.7 $\pm$ 1.31b	11.8 $\pm$ 0.85b
C18:2 $n$ 3	0.09 $\pm$ 0.06	0.08 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.02
C18:3 $n$ 6	0.09 $\pm$ 0.02a	0.06 $\pm$ 0.01b	0.04 $\pm$ 0.03b	0.04 $\pm$ 0.01b	0.07 $\pm$ 0.02b
C18:3 $n$ 3	0.70 $\pm$ 0.12c	5.08 $\pm$ 0.81a	5.26 $\pm$ 0.31a	3.35 $\pm$ 0.54b	3.21 $\pm$ 0.22b
C18:4 $n$ 3	0.1 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.04	0.09 $\pm$ 0.03	0.09 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.02
C20:0	0.18 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.04	0.16 $\pm$ 0.02	0.20 $\pm$ 0.04	0.22 $\pm$ 0.05
C20:1 $n$ 9	0.82 $\pm$ 0.08	0.81 $\pm$ 0.09	0.83 $\pm$ 0.12	0.73 $\pm$ 0.22	0.91 $\pm$ 0.09
C20:3 $n$ 9	0.78 $\pm$ 0.15	0.59 $\pm$ 0.05	0.64 $\pm$ 0.29	0.56 $\pm$ 0.09	0.60 $\pm$ 0.10
C20:4 $n$ 6	0.89 $\pm$ 0.25	0.64 $\pm$ 0.19	0.54 $\pm$ 0.20	0.72 $\pm$ 0.37	0.66 $\pm$ 0.25
C20:4 $n$ 3	0.12 $\pm$ 0.02c	0.63 $\pm$ 0.20b	0.70 $\pm$ 0.05a	0.54 $\pm$ 0.07b	0.54 $\pm$ 0.07b
C20:5 $n$ 3	0.08 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.02
C22:1 $n$ 9	0.07 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02
C22:4 $n$ 6	0.11 $\pm$ 0.05	0.12 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.05	0.11 $\pm$ 0.04	0.16 $\pm$ 0.10
C22:5 $n$ 3	0.38 $\pm$ 0.11	0.57 $\pm$ 0.23	0.49 $\pm$ 0.10	0.43 $\pm$ 0.15	0.62 $\pm$ 0.16
C22:6 $n$ 3	0.24 $\pm$ 0.08	0.25 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.05	0.20 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.11
Total SAFA	34.1 $\pm$ 1.85	34.5 $\pm$ 4.15	33.1 $\pm$ 1.59	33.5 $\pm$ 1.81	34.8 $\pm$ 2.95
Total MUFA	45.7 $\pm$ 1.56	44.4 $\pm$ 4.08	46.2 $\pm$ 2.25	48.7 $\pm$ 2.28	47.2 $\pm$ 1.86
Total PUFA	20.2 $\pm$ 2.98a,b	21.2 $\pm$ 1.03a	20.8 $\pm$ 0.69a	17.9 $\pm$ 1.99c	18.1 $\pm$ 1.33b,c
$n$ 6	17.8 $\pm$ 2.85a	13.8 $\pm$ 0.91b	13.1 $\pm$ 0.22b	12.6 $\pm$ 1.43b	12.7 $\pm$ 0.91b
$n$ 3	1.69 $\pm$ 0.42c	6.75 $\pm$ 0.96a	6.93 $\pm$ 0.24a	4.74 $\pm$ 0.61b	4.78 $\pm$ 0.39b
$n$ 6/ $n$ 3	10.5 $\pm$ 2.60a	2.10 $\pm$ 0.42b	1.91 $\pm$ 0.05b	2.67 $\pm$ 0.16b	2.66 $\pm$ 0.08b

a–d Means of experimental cooked ham bearing different letter within the same row are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>a</sup> Mean values of vacuum-packed cooked ham stored during 0 and 1 month at 2 °C manufactured with legs from pigs fed on diets: C = control (30 g/kg sunflower oil), L = 30 g/kg linseed oil, LE = 30 g/kg linseed oil + 200 mg/kg  $\alpha$ -tocopheryl acetate, LO = 15 g/kg linseed oil + 15 g/kg olive oil, LOE = 15 g/kg linseed oil + 15 g/kg olive oil + 200 mg/kg  $\alpha$ -tocopheryl acetate.

general, similar results to our own, concluding that dietary enrichment with vitamin E of pigs destined for the manufacture of pasteurized ham products does not appear to offer significant advantage over currently used feeding regimens.

Textural features were not affected by the cooked ham enrichment in  $n-3$  PUFAs since no significant differences in the results of the TPA, cutting force and cutting work among the different experimental cooked hams were found (data not shown).

Similarly, triangular test of the sensory analysis (data not shown), did not show any significant differences ( $p > 0.05$ ) among cooked ham batches.

It can be concluded that it is possible to manufacture cooked ham from pig legs enriched in  $n-3$  PUFA without adverse effects on its composition, lipid stability, textural or sensory properties. Since the cooked ham is a heat-treated meat product, usually vacuum-packed and stored under refrigeration, it might be unnecessary to add vitamin E to the pig diet because it is not probably the cause of development of lipid oxidation.

## Acknowledgements

This research was funded by the Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) and Ministerio de Ciencia y Tecnología with the projects ALI 98-0705 and AGL 2000-0050-P4-02. C. Santos and M. D'Arrigo were awarded a predoctoral scholarship of Universidad Complutense de Madrid and Agencia Española de Cooperación Internacional (MUTIS programme), respectively.

## References

- Ahn, D. U., Lutz, S., & Sim, J. S. (1996). Effects of dietary  $\alpha$ -linolenic acid on the fatty acid composition, storage stability and sensory characteristics of pork loin. *Meat Science*, 43, 291–299.
- Alexander, J. W. (1998). Immunonutrition: The role of  $\omega-3$  fatty acids. *Nutrition*, 14, 627–633.
- AOAC (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62–66.
- British Nutrition Foundation (1992). *Unsaturated fatty acids: Nutritional and physiological significance. The Report of British Nutrition Foundation's Task Force*. London: Chapman & Hall.
- Brooks, C. C. (1971). Fatty acid composition of pork lipids as affected by basal diet, fat source and fat level. *Journal of Animal Science*, 33, 1224–1233.
- Chan, W., Brown, J., Church, S. M., & Buss, D. H. (1996). *The royal society of chemistry and ministry of agriculture, fisheries and food, meat products and dishes. Sixth supplement to the fifth edition of McCance and Widdowson's. The composition of food* (p. 162). London: The Royal Society of Chemistry, Information Service.
- Cherian, G., & Sim, J. S. (1995). Dietary  $\alpha$ -linolenic acid alters the fatty acid composition of lipid classes in swine tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2911–2916.
- Chizzolini, R., Novelli, E., & Zanardi, E. (1998). Oxidation in traditional Mediterranean meat products. *Meat Science*, 49(S1), S87–S99.
- D'Arrigo, M., Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, M. I., Pin, C., & Ordoñez, J. A. (2002a). Effect of dietary linseed oil on pig hepatic tissue fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation. *Nutrition Research*, 22, 1189–1196.
- D'Arrigo, M., Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, M. I., Pin, C., Rey, A. I., & Ordoñez, J. A. (2002b). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on selected properties of pig fat. *Canadian Journal of Animal Science*, 82, 339–346.
- Ellis, N. R., & Isbell, H. S. (1926). Soft pork studies. 2. The influence of the character of the ration upon the composition of the body fat of hogs. *Journal of Biological Chemistry*, 69, 219–238.
- Fontanillas, R., Barroeta, A., Baucells, M. D., & Codony, R. (1997). Effect of feeding high *cis*-monounsaturated, *trans*, or  $n-3$  fats on lipid composition of muscle and adipose tissue of pigs. *Journal of Animal Science*, 45, 3070–3075.
- Gregory, J. F. (1996). Vitamins. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (3rd ed., pp. 531–616). New York: Marcel Dekker.
- Hanson, S. W. F., & Olley, J. (1963). Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochemical Journal*, 89, 101P–102P.
- Houben, J. H., & Gerris, C. V. M. (1998). Effect of the dietary supplementation with vitamin E on colour stability of packaged, sliced pasteurised ham. *Meat Science*, 50, 421–428.
- Hoving-Bolink, A. H., Eikelenboom, G., van Diepen, J. Th. M., Jongbloed, A. W., & Houben, J. H. (1998). Effect of dietary vitamin E supplementation on pork quality. *Meat Science*, 49, 205–212.
- Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, I., D'Arrigo, M., Pin, C., Santos, C., & Ordoñez, J. A. (2003). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle. *Meat Science*, 65, 1039–1044.
- ISO (1981a). *Analyse sensorielle. Methodologie. Essai Triangulaire. Norma I.S.O./TC 34/SC 12*. International Organization for Standardization: Genève, Switzerland.
- ISO (1981b). *Analyse sensorielle guide pour l'implantation d'un local destiné aux analyses sensorielles*. (ISO-DP 6658). International Organization for Standardization: Genève, Switzerland.
- Liu, Q., Scheller, K. K., Schaefer, D. M., Arp, S. C., & Williams, S. N. (1994). Dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate contributes to lipid stability in cooked beef. *Journal of Food Science*, 59, 288–290.
- Morgan, C. A., Noble, R. C., Cocchi, M., & McCartney, R. (1992). Manipulation of the fatty acid composition of pig meat lipids by dietary means. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 357–368.
- Perlo, F., Gago-Gago, A., Rosmini, M., Cervera-Perez, R., Perez-Alvarez, J., Pagan-Moreno, M., Lopez-Santovenia, F., & Aranda-Catala, V. (1995). Modification of physico-chemical and colour parameters during the marketing of pate. *Meat Science*, 41, 325–333.
- Rey, A., Lopez-Bote, C., Soares, M., & Isabel, B. (1997). Determination of  $\alpha$ -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331–334.
- Romans, J. R., Johnson, R. C., Wulf, D. M., Libal, G. W., & Costello, W. J. (1995). Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and  $\omega-3$  fatty acid content on pork: Dietary level of flaxseed. *Journal of Animal Science*, 73, 1982–1986.
- Rose, D. P., & Connolly, J. M. (1999). Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 217–244.
- Salih, A. M., Smith, D. M., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction of 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1488.
- Sandler, S. R., & Karo, W. (1992). *Sourcebook of advanced organic laboratory preparations*. San Diego: Academic Press.

- SAS (2001). Institute Inc., SAS/STAT software: Changes and enhancements, Release 8.2, Cary, NC.
- Skelley, G. C., Borgman, R. F., Handlin, D. L., Acton, J. C., McConnell, J. C., Wardlaw, F. B., & Evans, E. J. (1975). Influence of diet on quality, fatty acids, and acceptability of pork. *Journal of Animal Science*, 41, 1209–1304.
- Szczesniak, A. S. (1986). Sensory texture evaluation methodology. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*, 39, 86–96.
- Van Oeckel, M. J., Casteels, M., Warnants, N., Van Damme, L., & Boucquè, Ch. V. (1996). Omega 3 fatty acids in pig nutrition: Implications for the intrinsic and sensory quality of the meat. *Meat Science*, 44, 55–63.
- Van Oeckel, M. J., Casteels, M., Warnants, N., & Boucquè, Ch. V. (1997). Omega 3 fatty acids in pig nutrition: Implications for zootechnical performances, carcass and fat quality. *Archives of Animal Nutrition*, 50, 31–42.

## **ARTÍCULO III**

**Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications.**

**Food Chemistry. 2007. 101 (1), 107-112.**



## Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications

Manuela Fernández <sup>a,\*</sup>, Juan Antonio Ordóñez <sup>b</sup>, Isabel Cambero <sup>b</sup>, Carlos Santos <sup>a</sup>,  
Carmen Pin <sup>c</sup>, Lorenzo de la Hoz <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain

<sup>b</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain

<sup>c</sup> Institute of Food Research (BBSRC), Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, United Kingdom

Received 17 January 2005; received in revised form 3 January 2006; accepted 3 January 2006

### Abstract

Five varieties of Spanish dry cured ham were studied to assess their nutritional value in relation to fatty acids. Ten hams of the Traditional Speciality Guaranteed (TSG) “Jamón Serrano”, and the Protected Designations of Origin (PDO) “Jamón de Teruel”, “Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Huelva” and “Guijuelo”, were analysed. Iberian hams (“Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Huelva” and “Guijuelo”) were characterised by a lower proportion of saturated fatty acids (SFA) and a significantly higher percentage of mono-unsaturated fatty acids (MUFA) than white hams (“Jamón Serrano” and “Jamón de Teruel”). The Iberian varieties also showed a high proportion (approximately 50%) of C18:1  $n-9$ , while “Jamón Serrano” showed the highest percentage of C18:2 $n-6$ . The PUFA/SFA (P/S) ratio of the five varieties was  $\geq 0.19$ , with the highest ratio corresponding to “Jamón Serrano” (0.3). The  $n-6/n-3$  ratio was in the order of 13/1 in “Jamón Serrano” and “Jamón de Huelva”, and ranged from 9.3/1 to 10.3/1 in the other varieties. The most favourable hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic (h/H) ratio ( $\geq 2.5$ ) was found in the Iberian varieties. TSG “Serrano” was shown to supply the lowest percentage of the recommended daily intake of MUFA, the Iberian varieties showed the highest percentage of the daily intake of long-chain PUFA, and PDO “Dehesa de Extremadura” showed the highest percentage of the intake of C18:3 $n-3$ . The higher MUFA proportion and h/H ratio observed in the Iberian hams, together with their contribution to the recommended daily intake of fatty acids, would make these products more suitable for healthier diets, although consumption must be recommended in moderation.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Spanish dry cured ham; Fatty acids;  $n-6$ ;  $n-3$ ; Hypocholesterolemic; Hypercholesterolemic

### 1. Introduction

Current human diet in Western countries is characterised, among other facts, by a high intake of fats, especially saturated and  $n-6$  polyunsaturated fatty acids (PUFA) (Bengmark, 1998; Simopoulos, 2004). Saturated fatty acids are correlated with increased risk of cardiovascular disease while a high intake of monounsaturated and  $n-3$  polyunsaturated fatty acids has been shown to have an inverse

effect (Alexander, 1998; FAO, 1994; Kris-Etherton, 1999; Mattson & Grundy, 1985; Schaefer, 1997). On the other hand, a diet rich in  $n-6$  polyunsaturated fatty acids is not considered as balanced. Clinical studies, in patients with cardiovascular disease, arthritis, asthma, cancer and mental illness, clearly indicate the need to balance the  $n-6/n-3$  fatty acid intake for prevention, and during treatment, of chronic diseases (Simopoulos, 2004). There is strong scientific evidence for decreasing the  $n-6$  and increasing the  $n-3$  intake to improve health throughout the life cycle (Simopoulos & Cleland, 2003). For this reason, researchers are now emphasising the importance of

\* Corresponding author. Tel.: +34 91 3943946; fax: +34 91 3943743.  
E-mail address: [manuela@vet.ucm.es](mailto:manuela@vet.ucm.es) (M. Fernández).



the  $n-6/n-3$  PUFA ratio rather than the absolute content of each family of fatty acids in the diet (British Nutrition Foundation, 1992; Simonsen et al., 1998; Simopoulos, 2004). Today, in Western diets, the ratio of  $n-6/n-3$  fatty acids ranges from approximately 15/1 to 16.7/1, instead of the optimal ratio recommendations, which vary from 1/1 to 4/1 (Simopoulos, 2004).

Fat from meat and meat products, such as dry cured ham, is not considered among the “healthy” fats, since it contains cholesterol and large amounts of saturated fatty acids and very low levels of  $n-3$  PUFA (Rhee, 1992). However, the composition of meat fat depends on many factors, such as animal species, genetics and feeding and every product has to be considered separately. In this way, the increasing awareness of the need for diets to contain higher levels of “healthy” fats has focussed on the importance of the characterisation of fat from different meat products from a nutritional point of view.

Dry-cured hams are manufactured in many countries, but production is mainly located in the Mediterranean area (Álvarez de la Puente, 2003). There is a great variety of dry-cured hams in this area, some of the most important being Spanish Iberian and Serrano, Italian Parma and San Daniele, and French Bayonne hams. These varieties differ in the pig breed, type of feed, meat weight, type of cut and processing conditions (Martín-Bejarano, 2001; Ockerman, Basu, León Crespo, & Céspedes, 2002; Toldrá, 1998; Ventanas, Ruiz, & Córdoba, 2001).

The Spanish population consume approximately 4.5 kg of dry-cured ham per capita per year (Ministerio de Agricultura, 2004). Spanish hams are dry salted, air dried and aged during 7–24 months and they are not smoked (Martín-Bejarano, 2001; Ventanas et al., 2001). “Jamón” is produced throughout the entire country, but certain differences exist in production, depending on the zone and according to the production techniques. Basically, there are two distinct types of Spanish “jamón” related to the breed used: white and Iberian hams. In order to maintain quality and to avoid imitations, most of the Spanish production of ham is covered by different quality designations, according to the European Union systems for developing and protecting regional foods (European Commission, 1996, 1999).

Iberian ham production is today restricted to South-western Spain. These hams are produced from Iberian pigs (an indigenous, black footed, fine skeleton and long legged breed with a great adipogenic ability) and sometimes from Iberian pigs cross-bred with Duroc or Duroc-Jersey pigs (Ministerio de la Presidencia, 2001). There are three quality categories of hams, depending on feeding: “pienso” or “cebo” (the pigs are fed and fattened with commercial feed), “recebo” (the hogs are fed in the Mediterranean forest –“dehesa”– with acorns and pasture complemented with grains) and “montanera” or “bellota” (the hogs are exclusively fed and fattened in the “dehesa” with acorns and pasture). Iberian pigs are slaughtered at about 18 months and approximately at 160 kg weight (Ventanas et al.,

2001). They give high quality products characterised by much infiltration of fat in meat, which provides a high degree of marbling, a firm texture and an intense, delicate and very special flavour. These hams are dried in ambient air during 18–24 months and are the most appreciated by consumers, especially the “bellota” (acorn) type. There are three Protected Designations of Origin (PDO) of Iberian hams: “Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Huelva” and the main producer of Iberian hams- “Guijuelo”, varying in the geographical area of production, which implies differences in the hog line, the leg size, the ripening time and conditions, etc. (Ministerio de Agricultura, 1986, 1990, 1995; Ministerio de la Presidencia, 2001, 2003). Fig. 1 shows the geographical areas where the different types of Iberian hams are manufactured.

White pigs have taken a great part of the Spanish ham market from the Iberian hogs during recent decades due to their precocity, higher yielding and better adaptation to intensive farming, although Iberian ham production is recovering at the present moment. White hams show certain fat infiltration, although much lower than that of Iberian hams. Ripening usually takes 7–12 months and it is normally carried out in drying rooms (Ockerman et al., 2002). An important part of the Spanish white ham production comes under the Traditional Speciality Guaranteed (TSG) “Jamón Serrano”, a European Union standard that, since 2000, protects the processing method of this product (European Commission, 1999), although it does not make reference to a specific processing area or the origin of the raw material. However, there also exists a PDO of Spanish white ham, “Jamón de Teruel” (Ministerio de Agricultura, 1993), which is produced in the Northeast of Spain (Fig. 1) from white pigs fed with commercial feeding, by a minimum of 9 months of air-curing at more than 800 meters above sea level.



Fig. 1. Geographic areas of production of Spanish dry cured hams with protected designation of origin (PDO). ■ PDO “Jamón de Teruel”; □ PDO “Guijuelo”; ▨ PDO “Dehesa de Extremadura”; ▩ PDO “Jamón de Huelva”.

Taking into account the various origins and methods of production of Spanish hams, differences in composition must be expected, which are of interest, either from a technological or nutritional point of view. Although the genotype has a limited effect on the fatty acid composition of meat, this characteristic is strongly influenced by the diet, especially in the last stages prior to slaughter (Andrés et al., 2001; Cava et al., 1997; Tejeda, García, Muriel, & Antequera, 2002; Wood et al., 2003). The purpose of the present work was to study and compare the fatty acid composition of the five above mentioned varieties of Spanish ham, with special reference to their nutritional properties.

## 2. Materials and methods

Ten dry-cured hams of each of the above mentioned varieties (TSG “Jamón Serrano” and PDO “Jamón de Teruel”, “Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Huelva” and “Guijuelo”), were purchased in different marketplaces. “Guijuelo”, “Dehesa de Extremadura” and “Jamón de Huelva” hams belonged to the “bellota” category. All the hams analysed in this study corresponded to the left leg of the hog and were manufactured by different commercial brands. Ham samples were taken by cutting 1 cm slices parallel to the bone, containing sections of the muscles *Biceps femoris*, *Semi-tendinosus* and *Semi-membranosus*. Subcutaneous and intermuscular fat was removed. Samples were analysed in triplicate for dry matter, intramuscular lipid content and fatty acid composition of the intramuscular fat.

Dry matter was determined by drying the sample at 110 °C to constant weight.

Lipids were collected from the samples by cold extraction in chloroform and methanol in the presence of antioxidant BHT according to Hanson and Olley (1963) and quantified gravimetrically.

For the fatty acid analysis, methyl esters were prepared by acidic transesterification in the presence of sodium metal (0.1 N in methanol) and sulphuric acid (5% in anhydrous methanol) (Sandler & Karo, 1992). The methyl esters were extracted with petroleum ether and analysed using a Perkin-Elmer 8420 gas chromatograph (Perkin-Elmer, Beaconsfield, UK) equipped with a flame ionization detector and a capillary column HP-Innowax (30 m × 0.32 mm i.d. and 0.25 µm). The chromatographic conditions were as follows: the initial column temperature was 170 °C, which was maintained for 2 min, then raised to 240 °C at 3.5 °C/min and finally held for 20 min; injector and detector temperature were 250 °C. Helium was used as carrier gas, at a flow rate of 2 ml/min. Fatty acid methyl esters were identified by comparison with commercial standards analysed under the same conditions, and quantified as percentage of total methyl esters.

A Kruskal-Wallis test, equivalent to one-way ANOVA, was carried out to test the hypothesis of equality on the five groups. When this hypothesis was rejected, a multiple mean comparisons Dunn's test was carried out. A further study

of the differences between white and Iberian samples was performed by a non-parametric contrast on the ranks of the observations. Two models were compared: a model considering two groups of observations (white and Iberian samples) and a model consisting of the total average of the ranks of the 5 groups. The contrast was solved by calculating the Kruskal-Wallis statistics and approximating the associated *p*-value from the F-distribution. When the *p*-value was less than 0.05, the hypothesis of equality of the models was rejected, leading to conclusive differences between white and Iberian samples. Canonical discriminant analysis was carried out on the 50 independent samples.

## 3. Results and discussion

The water content of hams (Table 1) ranged from 41% to approximately 53%. Only TSG “Jamón Serrano”, which exhibited the highest water content, showed significant differences in comparison with the other varieties. The lipid content of the muscle (g/100 g D.M.) ranged from 17.2% in TSG “Jamón Serrano” to 29.2% in PDO “Dehesa de Extremadura” (Table 1). Hams belonging to PDO “Jamón de Teruel” showed a similar intramuscular lipid content (ILC) to that observed in PDO Guijuelo (Table 1).

Table 1 also shows the fatty acid profile (means of the observations) of each variety of ham. As can be observed in the Table, Iberian hams (“Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Huelva” and “Guijuelo”) were characterised by a significantly lower proportion of saturated fatty acids (SFA) and a significantly higher percentage of monounsaturated fatty acids (MUFA). The proportion of polyunsaturated fatty acids (PUFA) varied from 6.76% in PDO “Dehesa de Extremadura” to 12.2% in TSG “Jamón Serrano”. PDO “Jamón de Teruel” and “Jamón de Huelva” showed similar values among them, while PDO “Guijuelo” showed intermediate values.

In relation to the individual fatty acids, Iberian hams showed a higher percentage of C18:1 *n* – 9 and, in general, of C20:1 *n* – 9, compared to white hams (Table 1). TSG “Jamón Serrano” showed a significantly higher proportion of C14:0, C:16:0, C20:3 *n* – 6 and C22:5 *n* – 3. TSG “Jamón Serrano” and PDO “Jamón de Huelva” showed the highest proportion of C22:4 *n* – 6 and PDO “Jamón de Teruel”, the highest levels of C22:6 *n* – 3. According to the statistical analysis, no significant differences were found between the five types of hams for C16:1 *n* – 7, C18:1 *n* – 7, C18:3 *n* – 6, C18:3 *n* – 3, C20:0, C20:4 *n* – 6 and C20:5 *n* – 3 (Table 1).

Among PUFA, the main *n* – 6 fatty acid in all samples was C18:2 *n* – 6. TSG “Jamón Serrano” showed the highest values (10.2%). As a consequence, TSG “Jamón Serrano” showed the highest proportion of total *n* – 6 fatty acids among all the types analysed. The major *n* – 3 fatty acid was C18:3 *n* – 3, which did not show significant differences between hams. A significantly higher proportion of C22:5 *n* – 3 was found in TSG “Jamón Serrano”, and thus,

Table 1

Water (%), intramuscular lipid content (ILC) (g/100 g D.M.) and fatty acid profile (% of total fatty acids) of the five varieties of Spanish dry-cured hams (means of the observations for each group)

	Serrano	Teruel	Dehesa	Huelva	Guijuelo	<i>p</i> -value
Water	52.8 <sup>a</sup>	43.2 <sup>b</sup>	41.0 <sup>b</sup>	44.2 <sup>b</sup>	44.3 <sup>b</sup>	<0.001
ILC	17.2 <sup>c</sup>	24.2 <sup>b</sup>	29.2 <sup>a</sup>	20.7 <sup>b,c</sup>	23.3 <sup>b</sup>	<0.001
<i>Fatty acid</i>						
C12:0	0.13 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a,b</sup>	0.06 <sup>b,c</sup>	0.05 <sup>c</sup>	0.06 <sup>b,c</sup>	<0.001
C14:0	1.72 <sup>a</sup>	1.02 <sup>b</sup>	1.00 <sup>b</sup>	0.96 <sup>b</sup>	0.97 <sup>b</sup>	< 0.05
C16:0	26.1 <sup>a</sup>	24.6 <sup>a,b</sup>	22.9 <sup>b,c</sup>	22.4 <sup>c</sup>	21.9 <sup>c</sup>	<0.001
C16:1 <i>n</i> – 7	2.41	2.24	2.56	2.45	2.43	ns
C18:0	12.5 <sup>a,b</sup>	15.6 <sup>a</sup>	10.8 <sup>b,c</sup>	10.7 <sup>c</sup>	12.0 <sup>b,c</sup>	<0.001
C18:1 <i>n</i> – 9	40.6 <sup>b</sup>	42.5 <sup>b</sup>	50.5 <sup>a</sup>	48.9 <sup>a</sup>	50.1 <sup>a</sup>	<0.001
C18:1 <i>n</i> – 7	2.99	3.07	3.09	3.33	3.38	ns
C18:2 <i>n</i> – 6	10.2 <sup>a</sup>	7.14 <sup>b</sup>	5.43 <sup>c</sup>	7.18 <sup>b</sup>	6.13 <sup>b,c</sup>	<0.001
C18:2 <i>cis</i> -9,- <i>trans</i> 11	0.23 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a,b</sup>	0.13 <sup>b,c</sup>	0.10 <sup>c</sup>	0.12 <sup>c</sup>	<0.001
C18:3 <i>n</i> – 6	0.07	0.05	0.04	0.05	0.04	ns
C18:3 <i>n</i> – 3	0.51	0.46	0.40	0.34	0.35	ns
C20:0	0.19	0.23	0.16	0.18	0.20	ns
C20:1 <i>n</i> – 9	0.85 <sup>c</sup>	0.93 <sup>c</sup>	1.06 <sup>b,c</sup>	1.15 <sup>b</sup>	1.48 <sup>a</sup>	<0.001
C20:3 <i>n</i> – 6	0.45 <sup>a</sup>	0.36 <sup>b,c</sup>	0.31 <sup>c</sup>	0.37 <sup>a,b</sup>	0.39 <sup>b</sup>	<0.05
C20:4 <i>n</i> – 6	0.28	0.18	0.17	0.40	0.19	ns
C20:5 <i>n</i> – 3	0.11	0.09	0.10	0.10	0.16	ns
C22:4 <i>n</i> – 6	0.11 <sup>a</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	<0.05
C22:5 <i>n</i> – 3	0.10 <sup>a</sup>	0.07 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	<0.05
C22:6 <i>n</i> – 3	0.10 <sup>b</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>	<0.05
SFA	40.6 <sup>a</sup>	41.5 <sup>a</sup>	34.9 <sup>b</sup>	34.3 <sup>b</sup>	35.1 <sup>b</sup>	<0.001
MUFA	46.9 <sup>b</sup>	48.7 <sup>b</sup>	57.2 <sup>a</sup>	55.8 <sup>a</sup>	57.4 <sup>a</sup>	<0.001
PUFA	12.16 <sup>a</sup>	8.71 <sup>b</sup>	6.76 <sup>c</sup>	8.80 <sup>b</sup>	7.61 <sup>b,c</sup>	<0.001
PUFA/SFA	0.30 <sup>a</sup>	0.21 <sup>b,c</sup>	0.19 <sup>c</sup>	0.26 <sup>b</sup>	0.22 <sup>b,c</sup>	<0.001
<i>n</i> – 6	11.11 <sup>a</sup>	7.79 <sup>b</sup>	5.99 <sup>c</sup>	8.11 <sup>b</sup>	6.83 <sup>b,c</sup>	<0.001
<i>n</i> – 3	0.82 <sup>a</sup>	0.77 <sup>b</sup>	0.64 <sup>c</sup>	0.59 <sup>c</sup>	0.66 <sup>c</sup>	<0.005
<i>n</i> – 6/ <i>n</i> – 3	13.55 <sup>a</sup>	10.12 <sup>b</sup>	9.36 <sup>b</sup>	13.75 <sup>a</sup>	10.35 <sup>b</sup>	<0.05
h/H	2.0 <sup>b</sup>	2.11 <sup>b</sup>	2.52 <sup>a</sup>	2.61 <sup>a</sup>	2.67 <sup>a</sup>	<0.001

<sup>a,b,c</sup> Values in a row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) (Dunn's test); equal letters for groups mean no differences for that characteristic; ns = not significant.

h/H = hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic ratio = [(sum of C18:1*n* – 9, C18:1*n* – 7, C18:2*n* – 6, C18:3*n* – 6, C18:3*n* – 3, C20:3*n* – 6, C20:4*n* – 6, C20:5*n* – 3, C22:4*n* – 6, C22:5*n* – 3 and C22:6*n* – 3)/(sum of C14:0 and C16:0)].

a higher total *n* – 3 percentage was also found in this type of ham.

To assess the nutritional properties of ham fat, the PUFA/SFA ratio (P/S), the PUFA *n* – 6/*n* – 3 ratio and the hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic fatty acids ratio (h/H), were determined. In relation to P/S, a value above 0.4 is recommended for healthy foods and diets (UK Department of Health, 1994) although, as previously mentioned, the high proportion of PUFA in and on itself is not necessarily healthy if it is not balanced in relation to the *n* – 6/*n* – 3 ratio (Simopoulos & Cleland, 2003). The hams studied in the present work showed a P/S ratio of 0.19–0.30, TSG “Jamón Serrano” reaching the highest values.

The high MUFA percentage observed in the Iberian hams indicates their suitability for healthier diets, since MUFA (and PUFA) rich diets decrease cholesterol levels in blood and are related to a low incidence of cardiovascular diseases (Mattson & Grundy, 1985; FAO, 1994; Schaefer, 1997; Alexander, 1998; Kris-Etherton, 1999). García-Rebollo et al. (1998) found in clinical studies, in which Iberian ham was habitually included in the diet of elderly persons,

a decrease in plasma total cholesterol, triglycerides and LDL cholesterol. These observations are in agreement with the h/H ratio observed in the samples (Santos-Silva, Bessa, & Santos-Silva, 2002, with some modifications). The percentage of fatty acids considered as hypocholesterolemic (C18:1*n* – 9, C18:1*n* – 7, C18:2*n* – 6, C18:3*n* – 6, C18:3*n* – 3, C20:3*n* – 6, C20:4*n* – 6, C20:5*n* – 3, C22:4*n* – 6, C22:5*n* – 3 and C22:6*n* – 3) was significantly higher in the Iberian hams (>60%) than in the white ones (<55.5%), while the amount of hypercholesterolemic fatty acids (C14:0 and C16:0) showed the opposite behaviour (<24% in the Iberian hams vs. >25% in the white ones) (data not shown). As a result, the h/H ratio of the Iberian hams was significantly more favourable (>2.5) (Table 1).

The highest *n* – 6/*n* – 3 ratios (13.5–13.7/1) were found in TSG “Jamón Serrano” and PDO “Jamón de Huelva” (Table 1). Hams belonging to PDO “Guijuelo”, PDO “Dehesa de Extremadura” and PDO “Jamón de Teruel” varieties showed *n* – 6/*n* – 3 ratios of 9.3–10.3/1. Therefore, no typical pattern was found for either white or Iberian hams. The ratio obtained in the five varieties of hams is

above the levels recommended by different authors and institutions, such as the [British Nutrition Foundation \(1992\)](#) ( $n - 6/n - 3$  ratio = 6/1) or [Simopoulos \(2004\)](#) ( $n - 6/n - 3$  ratio = 1 – 4/1), although the ratios found in PDO “Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Teruel” and “Guijuelo” would be considered within the range recommended by the Sociedad Española de Nutrición Comunitaria ([Ros, 2001](#)) ( $n - 6/n - 3$  ratio = 6 – 10/1).

Canonical discriminant analysis (CDA) was carried out on the fatty acids listed in [Table 1](#). The two first canonical variables were retained. The first canonical variable (C1) accounted for approximately 84% of the total variability, while the second canonical variable (C2) accounted for approximately 13%. C1 directly correlated (Pearson coefficient >0.6) with C18:2n – 6, C14:0, C12:0, C22:5 n – 3 and C22:4n – 6, and was inversely associated with the percentage of C18:1n – 9 (with a correlation coefficient <–0.6). C2 showed a high positive correlation with C16:0 and C18:0, and was inversely correlated with C20:1 n – 9 and C18:1n – 9. [Fig. 2](#) shows the scores of the observations on the two first canonical variables and the distribution of the samples on the plane defined by C1 and C2. As can be seen, hams were clearly grouped in the plot. The C1 mainly distinguished between TSG “Jamón Serrano” and the other four varieties of hams, while the C2 was useful for differentiating among the other 4 groups of hams.

[Table 2](#) shows the fatty acid daily intake recommended for the Spanish adult population (DRSP) ([Martínez, 1998; Mataix, 2004](#)). According to these authors, SFA should supply 8% of the recommended total energy daily intake (2,300 kcal or 9.62 MJ), MUFA 20%, C18:2n – 6 4%, C18:3n – 3 0.8% and long-chain PUFA 0.2%. On the basis of these criteria, and considering the fatty acid composition of hams, the percentage of the DRSP supplied by 100 g of

Table 2

Daily intake recommended for the Spanish adult population (DRSP)<sup>A</sup>, estimation of the amount of fatty acids in 100 g of ham and percentage of the DRSP covered by the intake of 100 g of ham

	SFA <sup>B</sup>	MUFA	PUFA		
			C18:2n – 6	C18:3n – 3	Long PUFA
DRSP (g/day)	20.4	51.0	10.5	2.01	0.52
<i>g Fatty acids/100 g ham</i>					
Ham					
Serrano	2.97 <sup>c</sup>	3.46 <sup>c</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.037 <sup>c</sup>	0.08 <sup>b</sup>
Teruel	5.10 <sup>a</sup>	6.20 <sup>b</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.050 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>
Dehesa	5.55 <sup>a</sup>	9.05 <sup>a</sup>	0.49 <sup>c</sup>	0.062 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>
Huelva	3.69 <sup>b</sup>	5.91 <sup>b</sup>	0.74 <sup>a</sup>	0.035 <sup>c</sup>	0.11 <sup>a</sup>
Guijuelo	4.20 <sup>b</sup>	6.54 <sup>b</sup>	0.71 <sup>a,b</sup>	0.041 <sup>b</sup>	0.10 <sup>a,b</sup>
<i>% DRSP covered by the intake of 100 g of ham</i>					
Ham					
Serrano	14.6 <sup>c</sup>	6.78 <sup>c</sup>	7.17 <sup>a</sup>	1.84 <sup>c</sup>	15.4 <sup>b</sup>
Teruel	25.0 <sup>a</sup>	12.2 <sup>b</sup>	8.51 <sup>a</sup>	2.48 <sup>b</sup>	17.3 <sup>b</sup>
Dehesa	27.2 <sup>a</sup>	17.7 <sup>a</sup>	4.68 <sup>c</sup>	3.08 <sup>a</sup>	21.2 <sup>a</sup>
Huelva	18.1 <sup>b</sup>	11.6 <sup>b</sup>	7.07 <sup>a</sup>	1.74 <sup>c</sup>	21.2 <sup>a</sup>
Guijuelo	20.6 <sup>b</sup>	12.8 <sup>b</sup>	6.79 <sup>a,b</sup>	2.04 <sup>b</sup>	19.2 <sup>a,b</sup>

a,b,c Values in a column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>A</sup> Adapted from [Mataix \(2004\)](#) and [Martínez \(1998\)](#).

<sup>B</sup> SFA = saturated fatty acids; MUFA = monounsaturated fatty acids; PUFA = polyunsaturated fatty acids.

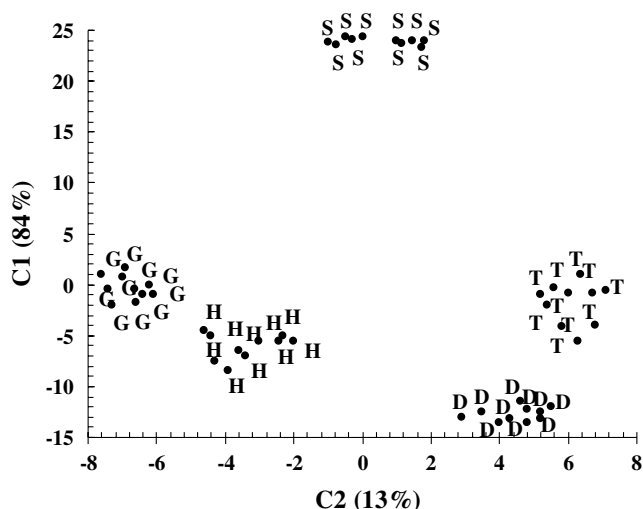


Fig. 2. Scores of the observations on the canonical variables (canonical discriminant analysis). D: PDO “Dehesa de Extremadura”; G: PDO “Guijuelo”; H: PDO “Jamón de Huelva”; S: TSG “Jamón Serrano”; T: PDO “Jamón de Teruel”.

ham was calculated ([Table 2](#)). As can be seen in the Table, PDO “Jamón de Teruel” and “Dehesa de Extremadura” supply the highest percentage of the DRSP in terms of SFA. The percentage of the DRSP of MUFA supplied by 100 g of ham was 2–3-fold lower in TSG “Serrano” than in the other ham varieties analysed in the present study. The percentage of the PUFA DRSP covered by all the ham varieties was 5–8% for C18:2n – 6, 2–3% in the case of C18:3n – 3 and 15–21% for long-chain PUFA. PDO “Dehesa de Extremadura” was shown to supply the lowest percentage of the daily intake of C18:2n – 6, and the highest intake of C18:3n – 3. In general, the three Iberian varieties (“Dehesa de Extremadura”, “Jamón de Huelva” and “Jamón de Teruel”) cover the highest percentage of the intake of long-chain PUFA.

From the results obtained in the present work, it can be concluded that Iberian hams could be considered as healthier from a nutritional point of view in relation to their fatty acid profiles, and thus, they could be included regularly in the diet, although in moderation, since the fatty acid ratios are within the limit or above the nutritional recommendations and these products also contain a high amount of salt.

## Acknowledgement

This work was funded by the Ministerio de Ciencia y Tecnología (Project AGL 2000-0050-P4-02, and AGL03-5803). C. Santos is the beneficiary of a predoctoral grant from the Universidad Complutense de Madrid.



## References

- Alexander, J. W. (1998). Immunonutrition: the role of  $\omega$ -3 fatty acids. *Nutrition*, 14, 627–633.
- Álvarez de la Puente, J., (2003). International trade of cured ham: promotion and barriers. *II World Congress of Dry Cured Ham*. International Commerce Plenary Session conferences. Cáceres, Spain.
- Andrés, A. I., Cava, R., Mayoral, A. I., Tejeda, J. F., Morcuende, D., & Ruiz, J. (2001). Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles as affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle fibre. *Meat Science*, 59, 39–47.
- Bengmark, S. (1998). Ecoimmunonutrition: a challenge for the third millennium. *Nutrition*, 14, 563–572.
- British Nutrition Foundation (1992). *Unsaturated fatty acids: Nutritional and physiological significance. The Report of British Nutrition Foundation's Task Force*. London: Chapman & Hall.
- Cava, R., Ruiz, J., López-Bote, C. J., Martín, L., García, C., Ventanas, J., et al. (1997). Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscle of the Iberian pig. *Meat Science*, 45, 263–270.
- European Commission. (1996). Commission Regulation (EC) No. 1107/96 of 12 June 1996 on the registration of geographical indications and designations of origin under the procedure laid down in Article 17 of Council Regulation (EEC) No. 2081/92. *Official Journal of the European Communities*, L148, 1–15.
- European Commission. (1999). Commission Regulation (EC) No. 2419/1999 of 12 November 1999 supplementing the Annex to Regulation (EC) No. 2301/97 on the entry of certain names in the Register of certificates of specific character provided for in Council Regulation (EEC) No. 2082/92 on certificates of specific character for agricultural products and foodstuffs. *Official Journal of the European Communities*, L291, 25–26.
- FAO. (1994). *Fat and oils in human nutrition*. FAO Food and Nutrition, Rome, Paper No. 57.
- García-Rebollo, A. J., Maciá, E., Ortiz, A., Morales, P. J., Martín, M., Fallola, A., et al. (1998). Effects of the consumption of meat product rich in monounsaturated fatty acids (the ham from the Iberian pig) on plasma lipids. *Nutrition Research*, 18, 743–750.
- Hanson, S. W. F., & Olley, J. (1963). Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochemical Journal*, 89, 101–102.
- Kris-Etherton, P. M. (1999). AHA science advisory: monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutrition*, 129, 2280–2284.
- Martín-Bejarano, S. (2001). Elaboración del jamón curado de cerdo blanco. In S. Martín-Bejarano (Ed.). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos* (Vol. 2, pp. 1205–1219). Plasencia: Martín & Macías.
- Martínez, J. A. (1998). Nutrición y recomendaciones dietéticas. In J. A. Martínez (Ed.), *Fundamentos teórico-prácticos de nutrición y dietética* (pp. 51–58). Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España.
- Mataix, J. (2004). Requerimientos e ingestas recomendadas de ácidos grasos omega-3 y ácido oleico. In J. Mataix & A. Gil (Eds.), *Libro blanco de los omega-3* (pp. 135–151). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Mattson, F. H., & Grundy, S. M. (1985). Comparison of the effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal of Lipid Research*, 26, 194–202.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1986). Orden de 10 de junio de 1986 por la que se aprueba el Reglamento de la Denominación de Origen “Guijuelo” y de su Consejo Regulador. *Boletín Oficial del Estado*, 141, 21572.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1990). Orden de 2 de julio de 1990 por la que se ratifica el Reglamento de la denominación de Origen “Dehesa de Extremadura” y su Consejo Regulador. *Boletín Oficial del Estado* 150, 18901.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1993). Orden de 3 de noviembre de 1993 por la que se ratifica el Reglamento de la Denominación de Origen “Jamón de Teruel” y su Consejo Regulador. *Boletín Oficial del Estado* 286, 33977.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1995). Orden de 12 de julio de 1995 ratificando el Reglamento de la Denominación de Origen “Jamón de Huelva. *Boletín Oficial del Estado*, 170, 21993–22002.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2004). *La alimentación en España*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Ministerio de la Presidencia. (2001). Real Decreto 1083/2001 de 5 de octubre por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón ibérico, paleta ibérica y caña de lomo ibérico elaborados en España). *Boletín Oficial del Estado*, 247, 37830–37833.
- Ministerio de la Presidencia. (2003). Real Decreto 144/2003 de 7 de febrero, por el que se modifica el Real Decreto 1083/2001 de 5 de octubre por el que se aprueba la norma de calidad para el jamón ibérico, paleta ibérica y caña de lomo ibérico elaborados en España. *Boletín Oficial del Estado*, 34, 5156–5157.
- Ockerman, H. W., Basu, L., León Crespo, F., & Céspedes, J. (2002). *Comparison of European and American systems of production and consumption of dry-cured hams*. Des Moines: National Pork Board. American Meat Science Association, pp. 1–12.
- Rhee, K. S. (1992). Fatty acids in meats and meat products. In C. K. Chow (Ed.), *Fatty acids in foods and their health implications* (pp. 65–93). New York: Marcel Dekker.
- Ros, E. (2001). Guía para una alimentación cardiosaludable. Aporte de grasa. In: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, *Guías alimentarias para la población española. Recomendaciones para una dieta saludable* (pp. 413–421). Madrid: IM & C.
- Sandler, S. R., & Karo, W. (1992). *Sourcebook of advanced organic laboratory preparations*. San Diego: Academic Press, p. 332.
- Santos-Silva, J., Bessa, R. J. B., & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 77, 187–194.
- Schaefer, E. J. (1997). Effects of dietary fatty acids on lipoproteins and cardiovascular disease risk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65(S), 1655–1656.
- Simonsen, N., van't Veer, P., Strain, J. J., Martín-Moreno, J. M., Huttunen, J. K., Navajas, J. F. C., et al. (1998). Adipose tissue omega-3 and omega-6 fatty acid content and breast cancer in the EURAMIC study. (European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer). *American Journal of Epidemiology*, 147, 342–352.
- Simopoulos, A. P. (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20, 77–90.
- Simopoulos, A.P., Cleland, L.G., (2003). *Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio. The scientific evidence*. Karger, World Review of Nutrition and Dietetics, Basel, Vol. 92.
- Tejeda, J.F., García, C., Muriel, E., Antequera, T., (2002). Muscle lipid composition of Iberian pig meat as related to genetic line. In: *Proceedings of the fourth eighth international congress of meat science and technology*, Rome, Vol. 2, p. 734.
- Toldrá, F. (1998). Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*, 49(S), 101–110.
- UK Department of Health, (1994). *Nutritional aspects of cardiovascular disease*. Report on Health and Social Subject No. 46. Her Majesty's Stationery Office, London.
- Ventanas, J., Ruiz, J., & Córdoba, J. J. (2001). El jamón curado de cerdo ibérico: descripción del proceso tradicional de elaboración. In S. Martín-Bejarano (Ed.). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos* (Vol. 2, pp. 1221–1245). Plasencia: Martín & Macías.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., et al. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21–32.

## **ARTÍCULO IV**

**Fatty acids and sensory characteristics of  
Spanish dry-cured loin enriched in acid  
 $\alpha$ -linolenic and  $\alpha$ -tocopherol.**

**Food Chemistry. 2007. 101 (4), 1701-1706.**



## Fatty acids and sensory characteristics of Spanish dry-cured loin enriched in acid $\alpha$ -linolenic and $\alpha$ -tocopherol

L. Hoz<sup>a,\*</sup>, I. Cambero<sup>b</sup>, C. Santos<sup>a</sup>, B. Herranz<sup>a</sup>, J.A. Ordóñez<sup>b</sup>

<sup>a</sup> *Departamento Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Avda. de la Coruña s/n, 28040 Madrid, Spain*

<sup>b</sup> *Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain*

Received 26 December 2005; received in revised form 17 March 2006; accepted 24 April 2006

### Abstract

The effects of using  $\alpha$ -linolenic and  $\alpha$ -tocopherol acid-enriched pork on the fatty acids and sensory characteristics of Spanish dry-cured loins were investigated. For the study, five batches of Spanish dry-cured loins were manufactured using pork loin enriched in polyunsaturated  $n-3$  fatty acids and  $\alpha$ -tocopherol. Tissues were obtained from pigs fed on diets with the same ingredients, except for the oil source which corresponded to: [sunflower (C), linseed (L) and linseed and olive (1/1, w/w) (LO)] and two different amounts of  $\alpha$ -tocopheryl acetate [20 (C, L and LO) or 200 (LOE and LE) mg/kg diet]. Dry-cured loins with polyunsaturated fatty acid  $n6/n3$  ratios below 4 were obtained from linseed and linseed/olive oil-enriched batches. Dry-cured loin manufactured with pork from animals fed on diets enriched only with linseed oil presented the worst sensory characteristics and higher TBAR values than did dry-cured loins from animals fed on diets enriched with linseed and olive oil and linseed oil plus tocopheryl acetate.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Dry-cured loin; Fatty acid; PUFA  $n-6/n-3$  ratio;  $\alpha$ -Tocopherol

### 1. Introduction

Previous papers have reported the enrichment of pork and pig adipose tissue with  $n-3$  polyunsaturated fatty acid (PUFA) by incorporating linseed oil and/or olive oil in the pig diet (D'Arrigo et al., 2002; Hoz et al., 2003). By this approach, pork meat and lard were obtained with reduced PUFA  $n-6/n-3$  ratios, reaching values close to 2. Also, pork lipid peroxidation was controlled by the inclusion of tocopheryl acetate in the pig diet (D'Arrigo et al., 2002; Hoz et al., 2003). Using both raw materials (meat and lard), the possibility of manufacturing "salchichon" (dry fermented sausage) with a low PUFA  $n-6/n-3$  ratio and with appropriate sensory characteristics has been reported (Hoz, D'Arrigo, Cambero, & Ordóñez, 2004). It is, therefore, possible to enrich this product in PUFA  $n-3$  without changing its chemical and sensory properties.

The interest in enriching the PUFA  $n-3$  content of meat products arises from the beneficial effects assigned to these fatty acids on human health (Alexander, 1998; Rose & Conolly, 1999; Simopoulos, 1997). Many chronic conditions (cardiovascular disease, diabetes, cancer, obesity, autoimmune diseases, rheumatoid arthritis, asthma, and depression) have been associated with increased production of thromboxane A<sub>2</sub>, leukotriene B<sub>4</sub>, IL-1B, IL-6, TNF and C-reactive protein (Simopoulos, 2004). These factors increase as a result of increased omega-6 fatty acid intake and decrease as a result of increased omega-3 fatty acid intake, either  $\alpha$ -linolenic acid or EPA or DHA. High PUFA  $n-6/n-3$  ratios in the human diet have been strongly correlated with chronic diseases (Simopoulos, 2004). Consequently, nutritional authorities have recommended the consumption of foods enriched in  $n-3$  PUFA, establishing a  $n-6/n-3$  PUFA ratio of less than 4 (British Nutrition Foundation, 1992) to improve the health status in humans.

In general, enrichment of the meat product in  $n-3$  PUFAs implies a greater susceptibility of the lipids to

\* Corresponding author. Tel.: +34 913943745; fax: +34 913943743.  
E-mail address: [delahoz@vet.ucm.es](mailto:delahoz@vet.ucm.es) (L. Hoz).



oxidation because the greater the number of double bonds, the faster are the oxidation reactions (Gurr, Harwood, & Frayn, 2002). Rapid oxidation may give rise to excessive rancidity, which can lead to the product being rejected by the consumer. In the present work,  $\alpha$ -tocopherol was used to reduce the susceptibility to oxidation.

This work was designed to study the chemical and sensory characteristics of a Spanish dry-cured loin manufactured with pork enriched in PUFA  $n-3$  and  $\alpha$ -tocopherol. Spanish dry-cured loin is a highly appreciated meat product, manufactured with the whole pork loin, mixed with different seasonings and stuffed in a natural or synthetic case.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental design

The material used in this trial was obtained from the same pigs as those used in a previous experiment for manufacturing dry fermented sausages (Hoz et al., 2004). Fifty Large White and Great York crossed female pigs were fed with five different diets. The pigs were divided into five groups with 10 pigs in each group. All diets were formulated with the same ingredients, except for the fat source (30 g/kg in all cases) and  $\alpha$ -tocopherol (Hoz et al., 2004). Dietary fat sources were sunflower oil (rich in C18:2 $n-6$ ) for the control diet (C), linseed oil (L, rich in C18:3 $n-3$ ) and a 1:1 (w/w) mixture of linseed oil and olive oil (LO, rich in C18:1 $n-9$ ). Within each dietary fat treatment containing L, a control group was fed a basal level (20 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg diet) of vitamin E (Hoffman La Roche, Switzerland), and the others received a supplemented level (200 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg diet) of vitamin E (batches LOE and LE).

Animals were stunned, slaughtered and exsanguinated at a local slaughterhouse at  $100.1 \text{ kg} \pm 7.09$  live weight. Pork loins were obtained after 24 h of refrigeration at 4 °C.

### 2.2. Preparation of the experimental dry-cured loin

To prepare a large amount of dry-cured loin, the whole left loins (*Longissimus dorsi*) of ten animals fed the same diet were used. For each of the five diets (C, L, LE, LO and LOE), ten dry-cured loins were manufactured. All the dry-cured loins were manufactured on the same day using the same technology, ingredients and formulation. Raw material was whole pork loin (*Longissimus dorsi*) of about 3.0 kg after removing the surface fat and connective tissue. Additives and other ingredients (g/kg of raw material) were water (25), NaCl (25), glucose (5), curing salts composed of NaNO<sub>3</sub> (2) and NaNO<sub>2</sub> (1), ascorbic acid (1.0), sweet paprika (15), hot paprika (5), powdered garlic (2), oregano (1). All the additives and other ingredients were mixed. This mixture was then evenly distributed on the loin surface and the ten loins from every batch were

covered with the mixture of additives and ingredients and then left at 4 °C for 48 h. Afterwards, each loin was packed into synthetic casing (90 mm in diameter). The resulting fifty pieces were ripened together in an Ibercex ripening cabinet, model G-28 (ASL, San Fernando de Henares, Spain). The meat products were kept at 23 °C and 94% relative humidity (RH) for 48 h. Then, the temperature and RH were slowly reduced to 8 °C and 84%, respectively, within 72 h. These ripening conditions were used until the end of the ripening process (a total of 25 days). At that time, the  $a_w$  was below 0.92 and the final product was vacuum-packed and maintained at room temperature.

Samples were taken at the end of the ripening process (0 months) and after 1 and 4 months of vacuum storage. Samples were vacuum packed, frozen at -18 °C and stored until analysis.

### 2.3. Chemical analysis

Protein (by Kjeldhal nitrogen), moisture (oven air-drying method) and ash (muffle furnace) were analyzed following the AOAC (1995) procedure. Water activity ( $a_w$ ) was determined using a Decagon CX1 hygrometer (Decagon Devices Inc., Pullman, WA) at 25 °C.

The concentration of  $\alpha$ -tocopherol was quantified as described by Rey, Lopez-Bote, Soares, and Isabel (1997). Analyses were carried out by reverse phase HPLC (HP 1050, Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) equipped for separation with a C18 column (RP-18, Hewlett-Packard). The mobile phase was methanol:water (97:3 v/v) at a flow rate of 2 ml/min, and the ultraviolet detector was fixed at 292 nm.

Lipids from adipose tissue samples were obtained using the method of Bligh and Dyer described by Hanson and Olley (1963). Fatty acid methyl esters were prepared, using the method of Murrieta, Hess, and Rule (2003). For this, transmethylation was performed using 1 ml of 1.09 M methanol and HCl and a 1 ml methanol addition to each lipid sample, followed by heating at 80 °C for 30 min and vortex-mixing every 5 min. Upon cooling, 1 ml H<sub>2</sub>O and 2 ml hexane were added to each tube. Tubes were capped and vortex-mixed for about 15 s and then centrifuged for 3 min at 3000 rpm. The hexane layer was transferred to GLC vials containing anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The methyl esters were extracted with 3 ml of petroleum ether. Then, 1  $\mu$ l was analyzed using a Perkin-Elmer 8420 gas chromatograph (Perkin-Elmer, Beaconsfield, UK) equipped with a flame ionization detector and a capillary column HP-Innowax (30 m  $\times$  0.32 mm, i.d. and 0.25  $\mu$ m). Helium, at 2.0 ml/min, was used as the carrier gas and a split/splitless injector was used with a split ratio of 10/1. The temperature programme was as follows: injector and detector temperatures 250 °C, the initial column temperature was 200 °C, which was maintained for 2 min, 200–245 °C at 3.5 °C min<sup>-1</sup> and then maintained for 7 min. Fatty acid methyl esters were identified by comparison with previously run standards. Analyses were done in duplicate.

Lipid oxidation was determined using the 2-thiobarbituric acid method (TBARs) described by Salih, Smith, and Dawson (1987). A quantity of 5 g of sample was homogenized in 15 ml of 0.38 M HClO<sub>4</sub> for 3 min in an ice bath. To avoid further oxidation, 0.5 ml of a 0.19 M BHT ethanolic solution was added. The homogenate was centrifuged (3000g, 5 min, 5 °C) and filtered through filter paper (Whatman No. 54). An aliquot of 0.7 ml was mixed with 0.7 ml of a 0.02 M TBA solution and heated at 100 °C for 30 min. After cooling, the mixture was centrifuged at 3000g for 15 min at 5 °C. Finally, the absorbance was measured at 532 nm. Results were expressed as mg malondialdehyde/kg sample.

Colour measurements were performed using a tristimulus colorimeter (Minolta Chroma Meter CR300, Minolta Corporation, NJ). The *L*\*, *a*\*- and *b*\*-values were measured four times on the surface of the dry-cured loin at three different analysis times [0 (freshly cut dry-cured loin hours), 4 and 24 h after cutting]. After the first colour measurement, samples were kept at room temperature without protection.

#### 2.4. Sensory analysis

To determine the possible sensory differences between the dry-cured loin batches, a triangle and an acceptance test were performed. At the end of the ripening period, dry-cured loin samples were evaluated by a panel of fifteen tasters, selected from among the members of the Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, who had been previously trained in the sensory assessment of meat products. The evaluation was performed between meals, after breakfast and before the midday meal. To reduce fatigue, panel members participated in three sessions per day (two of the triangular test and one of the acceptance tests) with a minimum of 1 h between sessions.

From each dry-cured loin, the outer part (1 cm) was discarded and the remainder was cut into pieces of 0.3 × 4 × 4 cm. These samples were left for 20 min to reach room temperature. The evaluations were performed in individual booths, built according to the criteria of the Interna-

tional Standards Organization (ISO, 1981a) DP 6658. The tasters were given unsalted crackers and room temperature water to clean the palate between samples. White fluorescent light was used during tests.

The triangle test (ISO, 1981b) was performed by the forced-choice option, in which the tasters must choose the sample that, in their opinion, is different. The combinations of samples used in the triangular test were: C vs. L, C vs. LE, C vs. LO, C vs. LOE, L vs. LE, L vs. LO, L vs. LOE, LE vs. LO, LE vs. LOE and LO vs. LOE. To complement the triangle test, testers were asked to indicate their reasons for selecting one particular sample of the three used in the analysis.

For the acceptance test, the hedonic rating option was used. One sample was presented at a time and the panellists were asked to rate the following attributes of the sausages on a non-structured 10 cm hedonic scale: colour, odour, flavour and texture. Samples were given scores of 1 (very poor) to 10 (excellent). The overall acceptability was calculated using the expression: overall quality: (Colour × 0.1) + (Odour × 0.15) + (Flavour × 0.5) + (Texture × 0.25).

#### 2.5. Statistical analysis

Data were analyzed using the General Linear Model of SAS (2001). An individual dry-cured loin was the experimental unit for analysis of all data. The comparative analyses between means were conducted using the Duncan multiple range test. Data were presented as the means of each group and the standard deviation (SD) of the mean.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Compositional and nutritional features

In previous research, it has been shown that the concentration of *n* – 3 fatty acids (Cherian & Sim, 1995) in both pork muscle and adipose tissue can be increased as a result of a clear reduction (<4) in PUFA *n* – 6/*n* – 3 ratio (D'Arrigo et al., 2002; Hoz et al., 2003). Using the loin (*Longissimus dorsi*) plus some seasoning, several experimental batches of Spanish dry-cured loin were produced. No effect

Table 1  
Chemical composition of Spanish dry-cured loin<sup>A</sup>

	Dietary treatment <sup>A</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
Dry matter (g/100 g product)	46.66 ± 1.66	46.25 ± 2.32	47.99 ± 2.17	46.88 ± 1.33	47.12 ± 2.37
Fat (% DM <sup>B</sup> )	5.4 ± 0.39	4.17 ± 2.31	4.62 ± 1.39	5.65 ± 0.85	6.08 ± 1.19
Protein (% DM <sup>B</sup> )	36.6 ± 2.19	37.5 ± 1.55	37.2 ± 2.87	36.0 ± 3.19	35.4 ± 1.78
Ash (% DM <sup>B</sup> )	4.13 ± 0.22	4.01 ± 0.73	4.71 ± 0.59	4.36 ± 0.15	4.27 ± 0.25

Values of Spanish dry loins are means of data from different vacuum storage times (0, 1 and 4 months).

<sup>a,b,c,d</sup> Means in the same row with different letters are significantly different (*p* < 0.05).

<sup>A</sup> Loin of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) + α-tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + α-tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)].

<sup>B</sup> DM: dry matter, g/100 g dry product.

Table 2  
 $\alpha$ -Tocopherol content (mg/kg wet matter) and TBARs values (mg malondialdehyde kg<sup>-1</sup>) of the Spanish dry-cured loin after 0, 1 and 4 months of vacuum storage

Vacuum storage time (month)	Dietary treatments <sup>A</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
<i><math>\alpha</math>-Tocopherol content</i>					
0	0.91 ± 0.29c	0.71 ± 0.75c	1.78 ± 0.61a	1.11 ± 0.34b	1.95 ± 0.21a
1	0.84 ± 0.24c	0.66 ± 0.33c	1.73 ± 0.71a	0.97 ± 0.21b	1.81 ± 0.66a
4	0.80 ± 0.46c	0.61 ± 0.17c	1.74 ± 0.45a	1.07 ± 0.21b	1.75 ± 0.21a
<i>TBARs values</i>					
0	1.24 ± 0.31b $\beta$	2.97 ± 0.51a $\beta$	1.22 ± 0.06b $\beta$	1.35 ± 0.26b $\beta$	0.87 ± 0.07c $\chi$
1	2.72 ± 0.17bc $\alpha$	4.05 ± 0.29a $\alpha$	3.05 ± 0.09b $\alpha$	2.66 ± 0.09c $\alpha$	2.52 ± 0.39c $\beta$
4	2.99 ± 0.39b $\alpha$	4.18 ± 1.89a $\alpha$	3.29 ± 0.18b $\alpha$	3.16 ± 0.87b $\alpha$	3.38 ± 0.09b $\alpha$

<sup>a,b,c</sup> Means in the same row and with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>$\alpha,\beta,\chi$</sup>  Means in the same column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>A</sup> Loin of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)].

of dietary treatment was observed on dry matter, fat, protein, or ash concentration in any sample (Table 1). The  $\alpha$ -tocopherol content (Table 2) in the dry-cured loins manufactured with *Longissimus dorsi* muscle enriched in  $\alpha$ -tocopherol (LE and LOE) was significantly greater ( $p < 0.05$ ) than in those made with muscle from pigs fed on a diet of basal  $\alpha$ -tocopherol content (C, L and LO)

maintaining the differences in  $\alpha$ -tocopherol level observed in pork muscle (Hoz et al., 2003). No reduction in  $\alpha$ -tocopherol was observed during vacuum storage of dry-cured loin (0, 1 and 4 months) (Table 2). The TBARs values of dry-cured loins (Table 2) manufactured with meat from animals fed on diets enriched in linseed oil (batch L) were always significant ( $p < 0.05$ ) and higher than those of

Table 3  
 Fatty acid composition (means ± standard error of the total fatty acid percentage) of the Spanish dry-cured loin

Dietary treatment <sup>A</sup>						
Fatty acid	C	L	LE	LO	LOE	$p <$
C12:0	0.04 ± 0.004	0.04 ± 0.004	0.04 ± 0.004	0.04 ± 0.004	0.05 ± 0.004	n.s.
C14:0	0.94 ± 0.03a	0.83 ± 0.04b	0.83 ± 0.03b	0.95 ± 0.03a	0.93 ± 0.03ab	0.05
C16:0	21.27 ± 0.17	20.37 ± 0.18	20.4 ± 0.17	21.2 ± 0.17	21.1 ± 0.18	n.s.
C16:1n7	0.37 ± 0.02a	0.30 ± 0.02b	0.27 ± 0.02c	0.30 ± 0.02b	0.36 ± 0.02a	0.01
C18:0	12.6 ± 0.17a	12.4 ± 0.18a	11.5 ± 0.16b	12.5 ± 0.16a	12.4 ± 0.16a	0.005
C18:1n9	43.3 ± 0.55b	42.7 ± 0.59b	42.3 ± 0.55b	43.2 ± 0.55b	44.5 ± 0.55a	0.05
C18:2n6	16.7 ± 0.31a	13.1 ± 0.33b	13.63 ± 0.31b	12.2 ± 0.31c	11.8 ± 0.31c	0.005
C18:3n6	0.06 ± 0.006	0.06 ± 0.14	0.05 ± 0.007	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.004	n.s.
C18:3n3	0.83 ± 0.07d	6.25 ± 0.88a	6.40 ± 0.19a	5.07 ± 0.77b	4.25 ± 0.69c	0.005
CLA	0.08 ± 0.007	0.07 ± 0.005	0.08 ± 0.007	0.07 ± 0.007	0.09 ± 0.02a	n.s.
C20:0	0.25 ± 0.03a	0.23 ± 0.02ab	0.25 ± 0.03a	0.21 ± 0.03b	0.25 ± 0.03a	0.05
C20:1n9	0.95 ± 0.08ab	0.94 ± 0.03ab	0.91 ± 0.05b	0.86 ± 0.06b	1.03 ± 0.16a	0.01
C20:4n6	0.35 ± 0.02a	0.23 ± 0.02c	0.22 ± 0.01c	0.23 ± 0.01c	0.28 ± 0.07b	0.005
C20:5n3	0.21 ± 0.03c	0.96 ± 0.12a	0.96 ± 0.04a	0.81 ± 0.07b	0.69 ± 0.09b	0.005
C22:4n6	0.13 ± 0.01a	0.07 ± 0.01b	0.05 ± 0.007b	0.06 ± 0.01b	0.08 ± 0.01b	0.005
C22:5n3	0.19 ± 0.04d	0.35 ± 0.04a	0.24 ± 0.05c	0.30 ± 0.04b	0.32 ± 0.04ab	0.005
C22:6n3	0.12 ± 0.007	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.007	0.10 ± 0.007	0.12 ± 0.007	n.s.
Total SFA	35.1 ± 0.28a	33.3 ± 0.30b	33.1 ± 0.28b	35.1 ± 0.28a	34.7 ± 0.28a	0.01
Total MUFA	46.1 ± 0.51b	46.0 ± 0.54b	45.0 ± 0.51b	46.0 ± 0.53b	47.5 ± 0.51a	0.05
Total PUFA	19.6 ± 0.48b	21.6 ± 0.52a	22.5 ± 0.48a	19.5 ± 0.49b	18.3 ± 0.48b	0.01
n6	17.2 ± 0.33a	13.5 ± 0.35b	14.0 ± 0.65b	12.5 ± 0.58b	12.2 ± 0.47b	0.01
n3	1.43 ± 0.08b	7.75 ± 0.91a	7.80 ± 0.52a	6.35 ± 0.84a	5.46 ± 0.51a	0.005
n6/n3	13.4 ± 0.34a	1.87 ± 0.37b	2.00 ± 0.34b	2.24 ± 0.33b	2.54 ± 0.55b	0.005

Values of Spanish dry loins are means of data from different vacuum storage times (0, 1 and 4 months).

n.s., no significative.

CLA, conjugated linoleic acid.

<sup>a,b,c,d</sup> Means in the same row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>A</sup> Loin of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)].

the remaining batches (C, LE, LO and LOE). This fact indicates a higher lipid oxidation caused by the enrichment in PUFA (Table 3) and the lower  $\alpha$ -tocopherol concentration (Table 2).

Differences in the fatty acid (FA) composition of pork muscle (Hoz et al., 2003) and also in the dry-cured loins (present paper) were observed, reflecting the diet consumed by pigs (Hoz et al., 2003; Hoz et al., 2004). Significant differences ( $p < 0.05$ ) were found in C14:0, C16:1 $n-7$ , C-18:0, C18:1 $n9$ , C18:2 $n-6$ , C18:3 $n-3$ , C20:0, C20:1 $n-9$ , C20:4 $n-6$ , C20:5 $n-3$ , C22:4 $n-6$  and C22:5 $n-3$  (Table 3). In the FA of the  $n-3$  family, the main effect was detected on C18:3 $n-3$ . Dry-cured loins L, LE, LO and LOE, were richer in these FAs (C18:3 $n-3$ , C20:5 $n-3$ , and C22:5 $n-3$ ) than was the control. C18:2 $n-6$  was the dominant one of the  $n-6$  family, showing a significantly ( $p < 0.005$ ) higher content in the control batch products, followed by those of batches L and LE and, finally, LO and LOE. Similar results had been previously reported in back fat and muscle (D'Arrigo et al., 2002; Hoz et al., 2003). The total  $n-6$ ,  $n-3$  FA contents and the PUFA  $n-6/n-3$  ratio varied considerably depending on the dry-cured loin batches. Significant differences ( $p < 0.05$ ) were found among the control and the remaining batches (L, LE, LO and LOE) which presented  $n-6/n-3$  ratios

close to 13 and 2, respectively. Experimental dry-cured loins (L, LE, LO and LOE) had a  $n-6/n-3$  ratio below 4 according to published nutritional recommendations (British Nutrition Foundation, 1992).

### 3.2. Colour instrumental evaluation

The  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ -values of control and experimental dry-cured loins were determined in the product a few minutes (time of air exposure 0) after opening the package (data not shown). No effect of diet was observed ( $p > 0.05$ ). A clear influence of air exposure after cutting (0, 4 and 24 h) was only observed in all batches in the  $L^*$  values, which is usual in meat products (Perlo et al., 1995; Hoz et al., 2004). This parameter showed an average value of  $45.2 \pm 2.10$  in freshly cut dry-cured loin and of  $36.9 \pm 1.98$  after 24 h. The  $a^*$  values varied from a minimum of  $7.64 \pm 0.54$  in fresh cut loin to a maximum of  $7.9 \pm 0.58$  at 24 h. The  $b^*$  parameter changed from  $8.7 \pm 0.46$  of freshly cut to  $10.7 \pm 1.37$  at 4–24 h. These differences after air exposure were probably due, initially, to the loss of surface water (Faustman & Cassens, 1990) and, afterwards to oxidation processes (Zanardi, Novelli, Ghiretti, Dorigoni, & Chizzolini, 1999). These results are in general agreement with those recorded for other meat products, such as salami or salchichon (Hoz et al., 2004; Zanardi et al., 1999).

### 3.3. Sensory analysis

In the triangular test (Table 4), significant differences ( $p < 0.05$ ) were found when Spanish dry-cured loin from batches L were compared with samples from all the other batches. Significant differences ( $p < 0.05$ ) in these comparisons always corresponded to observations of rancidity for flavour and odour.

The odour and flavour (Table 5) of L dry-cured loin received lower scores ( $p < 0.05$ ) than did the other batches. The overall acceptability was also significantly ( $p < 0.05$ ) lower in the L dry-cured loin batch with values of  $4.44 \pm 1.39$ , while the remaining batches presented values of around 7.20. This is because testers detected rancid notes

Table 4

Significance level of the results of the triangle test sensorial analysis of Spanish dry-cured loin

	Dietary treatment <sup>A</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
C	×	$p < 0.05$	n.s.	n.s.	n.s.
L	×	×	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.01$
LE	×	×	×	n.s.	n.s.
LO	×	×	×	×	n.s.
LOE	×	×	×	×	×

n.s., not significant ( $p > 0.05$ ).

<sup>A</sup> Loin of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil. 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)].

Table 5

Acceptance test of some sensorial attributes and overall acceptability of the Spanish dry-cured loin

	Dietary treatment <sup>A</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
Colour	$7.37 \pm 1.36$	$7.15 \pm 1.24$	$7.29 \pm 1.71$	$7.09 \pm 0.99$	$7.63 \pm 1.10$
Odour	$7.56 \pm 1.50a$	$4.65 \pm 2.01b$	$7.75 \pm 1.36a$	$7.13 \pm 1.16a$	$7.47 \pm 1.91a$
Flavour	$6.83 \pm 1.29a$	$3.72 \pm 1.88b$	$6.61 \pm 1.54a$	$6.53 \pm 1.67a$	$6.88 \pm 1.13a$
Textura	$7.36 \pm 2.93$	$7.58 \pm 2.88$	$7.33 \pm 2.48$	$7.28 \pm 2.19$	$7.25 \pm 1.85$
Overall acceptability <sup>B</sup>	$7.14 \pm 1.15a$	$4.44 \pm 1.39b$	$7.25 \pm 1.31a$	$7.05 \pm 2.15a$	$7.37 \pm 1.62a$

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>A</sup> Loin of animals fed with different diets [C, control (sunflower oil. 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (200 mg kg<sup>-1</sup>)].

<sup>B</sup> Overall quality: (Colour  $\times 0.1$ ) + (Odour  $\times 0.15$ ) + (Flavour  $\times 0.5$ ) + (Texture  $\times 0.25$ ).

in odour and flavour, probably due to the higher TBARS values (Table 2). Similar results were found in dry fermented sausages (Hoz et al., 2004) manufactured with raw materials enriched in  $n-3$  PUFAs but without  $\alpha$ -tocopherol. These sausages revealed an unpleasant and slightly rancid taste.

The results obtained here, showed the possibility of manufacturing Spanish dry-cured loin enriched in  $\alpha$ -linolenic acid with a PUFA  $n6/n3$  ratio below 4. However, to obtain products without negative effects on composition, lipid stability and sensory properties, the product must be enriched with  $\alpha$ -tocopherol to avoid the adverse effects of lipid oxidation. This approach could be attempted in dry ham production. This subject merits further investigation, which is currently in progress.

## Acknowledgments

This research was funded by the Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) and Ministerio de Ciencia y Tecnología with the project AGL 2000-0050-P4-02 and AGL 2003-05803. C. Santos was awarded a pre-doctoral scholarship by the Universidad Complutense de Madrid.

## References

- Alexander, J. W. (1998). Immunonutrition: the role of  $\omega-3$  fatty acids. *Nutrition*, 14, 627–633.
- AOAC (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- British Nutrition Foundation (1992). *Unsaturated fatty acids: Nutritional and physiological significance. The Report of British Nutrition Foundation's Task Force*. London: Chapman & Hall.
- Cherian, G., & Sim, J. S. (1995). Dietary  $\alpha$ -linolenic acid alters the fatty acid composition of lipid classes in swine tissues. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43, 2911–2916.
- D'Arrigo, M., Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, M. I., Pin, C., Rey, A. I., et al. (2002). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on selected properties of pig fat. *Canadian Journal of Animal Science*, 82, 339–346.
- Faustman, C., & Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: a review. *Journal of Muscle Foods*, 1, 217–243.
- Gurr, M. I., Harwood, J. L., & Frayn, K. N. (2002). *Lipid biochemistry. An introduction* (5th ed.). Oxford: Blackwell Science.
- Hanson, S. W. F., & Olley, J. (1963). Application of the Bligh and Dyer Method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochemical Journal*, 89, 101P–102P.
- Hoz, L., D'Arrigo, M., Cambero, I., & Ordóñez, J. A. (2004). Development of an  $n-3$  fatty acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched dry fermented sausage. *Meat Science*, 67, 485–495.
- Hoz, L., López-Bote, C. J., Cambero, I., D'Arrigo, M., Pin, C., Santos, C., et al. (2003). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle. *Meat Science*, 65, 1039–1044.
- ISO (1981a). *Analyse sensorielle guide pour l'implantation d'un local destiné aux analyses sensorielles. (ISO-DP 6658)*. Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO (1981b). *Analyse sensorielle. Methodologie. Essai Triangulaire. Norma I.S.O./TC 34/SC 12*. Genève, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Perlo, F., Gago-Gago, A., Rosmini, M., Cervera-Perez, R., Perez-Alvarez, J., Pagan-Moreno, M., et al. (1995). Modification of physico-chemical and colour parameters during the marketing of pate. *Meat Science*, 41, 325–333.
- Rey, A., Lopez-Bote, C., Soares, M., & Isabel, B. (1997). Determination of  $\alpha$ -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331–334.
- Rose, D. P., & Connolly, J. M. (1999). Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 217–244.
- Salih, A. M., Smith, D. M., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction of 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1488.
- Murrieta, C. M., Hess, B. W., & Rule, D. C. (2003). Comparison of acidic and alkaline catalysts for preparation of fatty acid methyl esters from ovine muscle with emphasis on conjugated linoleic acid. *Meat Science*, 65, 523–529.
- SAS. (2001). Institute Inc., SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 8.2, Cary, NC.
- Simopoulos, A. P. (1997).  $\omega-3$  fatty acids in the prevention-management of cardiovascular disease. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology*, 75, 234–239.
- Simopoulos, A. P. (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20, 77–90.
- Zanardi, E., Novelli, E., Ghirelli, G. P., Dorigoni, V., & Chizzolini, R. (1999). Colour stability and vitamin E content of fresh and processed pork. *Food Chemistry*, 67, 163–171.



## **ARTÍCULO V**

**Enrichment of dry-cured ham with  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol by the use of linseed oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate in pig diets.**

**Meat Science. 2008. 80 (3), 668-674.**





## Enrichment of dry-cured ham with $\alpha$ -linolenic acid and $\alpha$ -tocopherol by the use of linseed oil and $\alpha$ -tocopheryl acetate in pig diets

C. Santos<sup>a</sup>, L. Hoz<sup>a,\*</sup>, M.I. Cambero<sup>b</sup>, M.C. Cabeza<sup>a</sup>, J.A. Ordóñez<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

<sup>b</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 21 September 2007

Received in revised form 14 February 2008

Accepted 9 March 2008

#### Keywords:

Dry-cured ham

Fatty acid

Linolenic acid

$n-6/n-3$  ratio

$\alpha$ -Tocopherol

### ABSTRACT

The use of  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched pork on the fatty acids and the sensory characteristics of Spanish dry-cured hams have been studied. Five batches of hams were manufactured using the posterior legs of pigs fed on diets with the same ingredients except for the oil source: sunflower (C), linseed (L) or linseed and olive (1/1, w/w, LO). Two different  $\alpha$ -tocopheryl acetate concentrations [20 (C, L and LO) or 220 (LOE and LE) mg/kg diet] were used. *Biceps femoris* and *Semitendinosus/Semimembranosus* muscles from hams with low polyunsaturated fatty acid  $n-6/n-3$  ratio (less than 3) were obtained from animals fed on linseed and linseed/olive oil enriched diets. However, hams from animals fed on diets added with linseed and  $\alpha$ -tocopheryl acetate (20 mg/kg diet) (batch L) were rejected by consumers because of less acceptable sensory characteristics and higher TBARs. The remaining hams had satisfactory sensory and nutritional characteristics.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Although consumers highly appreciate pork products, this meat industry is being modified to offer diversity and new products covering nutritional aspects such as low sodium content (Guardia, Guerrero, Gelabert, Gou, & Arnau, 2006), low fat content (Valsta, Tapanainen, & Mannisto, 2005) and fatty acid profile modification. Meat products enriched with  $n-3$  PUFA offer the beneficial effects assigned to those fatty acids on human health (Alexander, 1998; Rose & Connolly, 1999; Simopoulos, 1997). High PUFA  $n-6/n-3$  ratios in the human diet have been strongly correlated with chronic diseases (Simopoulos, 2004). For this reason, nutritional authorities have recommended the consumption of foods enriched in  $n-3$  PUFA, thus establishing a  $n-6/n-3$  PUFA ratio of less than 4 (British Nutrition Foundation, 1992) to improve health status in humans. Consequently, research has focused efforts in the enrichment of pork products with  $n-3$  fatty acids by adding them to the meat product (Ansorena & Astiasaran, 2004; Muguerza, Ansorena, & Astiasaran, 2004; Valencia, Ansorena, & Astiasaran, 2006) or feeding animals with lipids rich in  $n-3$  fatty acids such as fish oil (Hertzman, Göransson, & Ruderus, 1988; Kjos, Skrede, & Overland, 1999) or linseed oil (Hoz, D'Arrigo, Cambero, & Ordoñez, 2004; Hoz et al., 2003; Nuernberg et al., 2005; Santos, Ordoñez, Cambero, D'Arrigo, & de la Hoz, 2004). When it is necessary to maintain the muscle integrity during the meat product manufacture, as in dry-cured ham pro-

duction, the second alternative is the only way possible to improve the  $n-3$  fatty acid content in pork products. Dry-cured ham is a classic Spanish meat product with a high implantation in the market and very appreciated by the consumers.

Previous research has been shown that it is possible to manufacture dry fermented sausages and dry cured loin enriched in linolenic acid, with a low  $n-6/n-3$  PUFA ratio and with good sensory characteristics by using ingredients from animals fed on diets enriched in linseed oil and tocopheryl acetate to limit lipid oxidation (Hoz, Cambero, Santos, Herranz, & Ordóñez, 2007; Hoz, D'Arrigo, Cambero, & Ordoñez, 2004).

The present research was planned with the aim of improving the nutritional quality (enrichment in PUFAs  $n-3$ ) of dry-cured hams. These products require long ripening periods (8–15 months) to reach the optimal sensory characteristics. For this reason, they are susceptible to the possible adverse effects of the environmental factors (relative humidity, atmospheric oxygen, light, etc.), and in some instances, extensive lipid oxidation is promoted. This susceptibility is increased by  $n-3$  PUFA enrichment because the higher lipid unsaturation degree promotes faster lipid oxidation. To limit this adversity tocopheryl acetate was added to pig's diet.

The final objective of this research was, therefore, an attempt at improving the nutritional quality of the dry-cured ham through fatty acid profile modification (reduction of the ratio of  $n-6/n-3$  PUFAs to levels lower than 4 by increasing the  $n-3$  fatty acid content), controlling lipid oxidation and maintaining sensory quality. The study has been carried out on the *Biceps femoris* and *Semimembranosus/Semitendinosus* muscles because they constitute the

\* Corresponding author. Tel.: +34 913943745; fax: +34 913943743.  
E-mail address: [delahoz@vet.ucm.es](mailto:delahoz@vet.ucm.es) (L. Hoz).



greater proportion of the total weight of the ham, both fresh and after curing (Henning, Moody, Kemp, & Fox, 1973). These muscles present different sarcomere length, collagen content and proteolysis (Wheeler, Shackelford, & Koohmaraie, 2000).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental design

Fifty Large White and Great York crossed female pigs were divided into 5 groups (10 pigs in each group) and were fed with five different diets (Table 1). All diets were formulated with the same ingredients except for the fat source (30 g/kg in all cases) and  $\alpha$ -tocopherol (Hoz, D'Arrigo, Cambero, & Ordoñez, 2004). Dietary fat sources were sunflower oil (rich in C18:2n–6) for the control diet (C), linseed oil (L, rich in C18:3n–3) and a 1:1 (w/w) mixture of linseed oil and olive oil (LO, rich in C18:1n–9). Within each dietary fat treatment containing L, two groups (L and LO) were fed a basal level (20 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg diet) of vitamin E (Hoffman La Roche, Switzerland), and the others received a supplemented level (220 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg diet) of vitamin E (batches LOE and LE).

**Table 1**  
Ingredients, chemical composition and calculated metabolizable energy of experimental diets

	Diets <sup>a</sup>				
	C	L	LE	LO	LOE
<i>Ingredients (g kg<sup>-1</sup> of diet)</i>					
Barley	505	505	505	505	505
Wheat	206	206	206	206	206
Soybean (47% crude protein)	231	231	231	231	231
Sunflower oil	30	–	–	–	–
Linseed oil	–	30	30	15	15
Olive oil	–	–	–	15	15
Sodium chloride	4	4	4	4	4
Calcium carbonate	7	7	7	7	7
Bicalcium phosphate	12	12	12	12	12
Lys supplement (20%)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Vitamin and mineral premix <sup>b</sup>	5	5	5	5	5
BHT	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
$\alpha$ -tocopheryl acetate (50%)	–	–	0.4	–	0.4
Calculated energy (MJ kg <sup>-1</sup> )	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2
<i>Proximate analysis</i>					
Dry matter (DM, g kg <sup>-1</sup> feed)	890	889	893	888	892
Crude protein (g kg <sup>-1</sup> DM)	178	176	177	175	178
Crude fat (g kg <sup>-1</sup> DM)	51	51	50	47	49
Crude fiber (g kg <sup>-1</sup> DM)	39	41	43	45	40
$\alpha$ -tocopherol (mg kg <sup>-1</sup> DM)	24	31	256	37	263
<i>Fatty acid composition (g kg<sup>-1</sup> DM)</i>					
C16:0	4.0	4.2	5.2	4.7	3.8
C16:1	0.2	0.3	0.4	0.7	0.6
C18:0	1.3	1.7	1.6	1.5	1.1
C18:1	8.3	7.9	8.6	16.4	15.6
C18:2	24.7	10.3	10.7	9.3	9.6
C18:3	0.7	15.4	15.8	8.2	8.6
SFA <sup>c</sup>	5.4	6.0	6.8	6.2	4.9
MUFA <sup>c</sup>	8.5	8.2	9.1	17.1	16.2
PUFA <sup>c</sup>	25.4	25.7	26.5	17.6	18.3
Total fatty acids (g kg <sup>-1</sup> DM)	39.4	39.9	42.4	40.9	39.4

<sup>a</sup> Diets containing C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>).

<sup>b</sup> Vitamin and mineral premix provided (per kilogram of diet): vitamin A, 8000 U.I.; vitamin D<sub>3</sub>, 2000 U.I.; vitamin E, 6.7 mg; menadione, 0.7 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 0.6 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 3.0 mg; niacin, 15 mg; pantothenic acid, 7 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 1 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 12 µg; choline, 100 mg; Fe, 60 mg; Cu, 7 mg; Zn, 45 mg; Mn, 5.0 mg; Se, 0.15 mg; I, 0.2 mg.

<sup>c</sup> SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

Animals were stunned, slaughtered and exsanguinated at a local slaughterhouse at 100.1 ± 7.1 kg live weight. Pork legs were obtained after 24 h of refrigeration at 4 °C.

### 2.2. Preparation of the experimental dry-cured ham

To prepare a lot of dry-cured ham, the right leg of five animals fed the same diet were randomly chosen. For each of the five diets (C, L, LE, LO and LOE) five dry-hams were made. All the dry-cured hams (25) were manufactured in the meat industry Campofrío (Navidul) at Torrijos (Toledo, Spain) the same day using the same process.

Dry-cured hams were processed according to the following operations. In a room at 3–5 °C and relative humidity (RH) 75–85%, hams were covered with a mixture of salts (NaCl amount equivalent to 2% of the weight of the ham, 200 ppm of KNO<sub>3</sub> and 100 ppm of NaNO<sub>2</sub>) and stacked for a period of 1 day per kg of fresh ham minus one. After that hams were washed with cold water and hung for 30 days at 3–5 °C. The drying process was carried out at 13–15 °C and RH 75–85% for three months, and at 22–26 °C, RH 60–75% for four months. Then the dry-cured hams were left four months at 12–17 °C and RH 60–80%, to reach a total ripening period of one year.

Samples were taken at the end of the ripening process (12 months). After deboning, the *Biceps femoris* and *Semitendinosus*/*Semimembranosus* muscles were isolated for physico-chemical analysis and sensory analysis. Samples of *Biceps femoris* and *Semitendinosus*/*Semimembranosus* for chemical analysis were vacuum-packed, frozen at –18 °C and stored until use.

### 2.3. Chemical analysis

Dry matter (oven air-drying method) and ash (muffle furnace) were analyzed following AOAC (1995) procedures. The pH and water activity (*a<sub>w</sub>*) were determined using a Crison Digit-501 pH meter (Crison Instruments LTD, Barcelona, Spain) and a Decagon CX1 hygrometer (Decagon Devices Inc., Pullman, WA) at 25 °C, respectively. The chloride content was determined by the Norma ISO R-1841–1 (ISO, 1996), and nitrate and nitrite content were determined using an enzymatic kit (Cat. No. 09050658, Roche, Palo Alto, USA) according to the procedure described by Arneth and Herold (1988).

Concentration of  $\alpha$ -tocopherol was quantified as described by Rey, Lopez-Bote, Soares, and Isabel (1997). Analysis was carried out by reverse phase HPLC (HP 1050, Hewlett Packard, Waldbronn, Germany) equipped for separation with a C18 column (RP-18, Hewlett Packard). The mobile phase was methanol:water (97:3 v/v) at a flow rate of 2 ml/min, and the detector was fixed at 292 nm.

Lipids from dry-cured ham samples were obtained using the method of Bligh and Dyer described by Hanson and Olley (1963). Fatty acid methyl esters were prepared using the method of Baublits et al. (2006). For this, transmethylation was performed using 1 ml of 1.09 M HCl in methanol and 1 ml methanol added to about 100 mg of lipids followed by heating at 80 °C for 30 min and vortex-mixing every 5 min. Upon cooling, 1 ml of H<sub>2</sub>O and 2 ml of hexane were added to each tube. Tubes were capped and vortex-mixed for about 15 s and then centrifuged for 3 min at 900 g. The hexane layer was transferred to gas liquid chromatography (GLC) vials containing anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Then, 1 µl was analyzed using a Perkin Elmer 8420 gas chromatograph (Perkin Elmer, Beaconsfield, UK) equipped with a flame ionization detector and a capillary column HP-Innowax (30 m length, 0.32 mm i.d., 0.25 µm film thickness). Helium at 2.0 ml/min was used as carrier gas and the split/splitless injector was used with a split ratio of 10/1. The temperature program was as follows: injector and detector temperature

250 °C, the initial column temperature was 200 °C, which was kept for 2 min, followed by a programmed rise to 245 °C at 3.5 °C min<sup>-1</sup> and then held for 7 min.

Lipid oxidation was determined using the 2-thiobarbituric acid method (TBARS) described by Salih, Smith, and Dawson (1987). Dry-cured ham, 5 g, was homogenized in 15 ml of 0.38 M HClO<sub>4</sub> for 3 min in an ice bath. To avoid further oxidation, 0.5 ml of a 0.19 M BHT ethanolic solution was added. The homogenate was centrifuged (3000 g, 5 min, 5 °C) and filtered through Whatman no. 54. An aliquot of 0.7 ml was mixed with 0.7 ml of a 0.02 M TBA solution and heated at 100 °C for 30 min. After cooling, the mixture was centrifuged at 3000 g for 15 min at 5 °C. Finally, the absorbance was measured at 532 nm. A stock solution of 1 mol/1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) (Sigma Corporation, USA) in distilled water was used to prepare dilutions ranging from 1 × 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-7</sup> mol TEP and used to plot a standard curve. Results were expressed as mg malondialdehyde/kg sample.

#### 2.4. Colour measurements

Colour measurements were performed using a tristimulus colorimeter (Minolta Chroma Meter CR300, Minolta Corporation, NJ). The *L*\*, *a*\*- and *b*\*-values were measured on the surface of the dry-ham at three different times [0 h (freshly cut dry-ham), 4 and 24 h after cutting]. After the first colour measurement, samples were kept at room temperature without protection. Analysis at each different time was performed in quadruplicate.

#### 2.5. Sensory analysis

To determine the possible sensory differences between the dry-cured ham batches, a triangle and an acceptance test were performed using the *Biceps femoris* muscle. At the end of the ripening period (one year), *Biceps femoris* samples were evaluated by a panel of fifteen tasters selected from among the members of the Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, trained experts in the sensory assessment of meat products. The evaluation was performed between meals, after breakfast and before the midday meal. To reduce fatigue, panel members conducted three sessions per day (two of the triangular test and one of the acceptance tests) with a minimum of 1 h between sessions.

Samples of *Biceps femoris* were cut into pieces of 0.3 × 4 × 4 cm. These samples were left for 5 min to reach room temperature. The evaluations were performed in individual booths built according to the criteria of the International Standards Organization (ISO., 1981a) DP 6658. The tasters were given unsalted crackers and

room temperature water to clean the palate between samples. White fluorescent light was used during tests.

The triangle test (ISO., 1981b) was performed by the forced-choice option, in which the tasters must choose the sample that, in their opinion, is different. The combinations of samples used in the triangular test were: C vs L, C vs LE, C vs LO, C vs LOE, L vs LE, L vs LO, L vs LOE, LE vs LO, LE vs LOE and LO vs LOE. As a complement to the triangle test, testers were asked to indicate the reason why they had chosen the different one of the three used in the analysis.

For the acceptance test (Lyon, Francombe, Hasdell, & Lawson, 1992), the hedonic rating option was used. One sample was presented at a time and the panellists were asked to rate the following attributes of the dry-cured ham on a non-structured 10 cm hedonic scale: colour, odour, flavour and texture. Samples were given scores from 1 (very poor) to 10 (excellent). The overall acceptability was calculated using the expression (Bruna, Fernandez, Ordóñez, & Hoz, 2002): Overall acceptability (Colour × 0.1) + (Odour × 0.15) + (Flavour × 0.5) + (Texture × 0.25).

#### 2.6. Statistical analysis

Data were analyzed using the General Linear Model of SAS (2001). An individual dry-cured ham was the experimental unit for analysis of all data. The comparative analyses between means were conducted using the Duncan multiple range test. Data were presented as the means of each group and the standard deviation (SD) of the mean. In the colour determination the effect of the diet and time after cutting was considered.

### 3. Results and discussion

In general, no significant differences (*p* > 0.05) were observed on comparing the dry matter, fat, ash, chlorides, nitrates, nitrites, pH and *a<sub>w</sub>* of the *Biceps femoris* muscles (Table 2) or those of the *Semimembranosus*/*Semitendinosus* muscles (Table 3) in the different dry-cured ham batches.

The *Biceps femoris* and *Semimembranosus*/*Semitendinosus* muscles from dry-cured hams manufactured with legs from animals in batches LE and LOE (diets with high proportions of α-tocopheryl acetate) showed concentrations of α-tocopherol in the interval 2.9–3.7 mg/kg of product, that is around two-three times higher than those detected in batches C and L. This fact is due to the accumulation of α-tocopherol from the feedstuff in the animal tissue (Hoz et al., 2003). Samples of *Biceps femoris* and *Semimembranosus*/*Semitendinosus* muscles from dry-cured ham LO (from animals fed on

**Table 2**  
Chemical composition, α-tocopherol content and TBARS values of *Biceps femoris* from dry-cured hams<sup>A</sup>

	Dietary treatment				
	C	L	LE	LO	LOE
Dry matter (g/100 g product)	53.79 ± 5.14	52.01 ± 4.35	54.41 ± 4.55	52.64 ± 3.99	54.25 ± 4.63
Fat (% D.M. <sup>B</sup> )	14.72 ± 5.84	16.47 ± 5.79	15.05 ± 4.33	13.79 ± 6.45	16.21 ± 7.49
Ash (% D.M. <sup>B</sup> )	8.74 ± 1.25	9.19 ± 1.65	8.73 ± 1.26	8.85 ± 1.27	9.12 ± 0.89
Chlorides (% D.M. <sup>B</sup> )	7.25 ± 1.19	7.75 ± 1.51	7.14 ± 0.96	7.29 ± 1.01	7.89 ± 0.99
Nitrites (mg/kg product)	1.85 ± 0.38	1.75 ± 0.77	2.01 ± 0.42	1.82 ± 1.01	1.79 ± 0.53
Nitrates (mg/kg product)	73.51 ± 12.02	75.31 ± 9.51	72.19 ± 10.43	77.46 ± 9.02	74.59 ± 9.33
pH	6.09 ± 0.10	6.08 ± 0.08	6.12 ± 0.08	6.07 ± 0.11	6.10 ± 0.11
<i>a<sub>w</sub></i>	0.883 ± 0.002	0.881 ± 0.001	0.876 ± 0.002	0.882 ± 0.003	0.878 ± 0.002
α-tocopherol (mg/kg product)	1.00 ± 0.65c	0.88 ± 0.23c	2.90 ± 1.08a	2.10 ± 0.60b	3.70 ± 1.13a
TBARS values (mg/kg product)	0.64 ± 0.19b	1.96 ± 0.32a	0.77 ± 0.11b	1.26 ± 0.31ab	0.78 ± 0.08b

a, b, c, d: means at the same row with different letter are significantly different (*P* < 0.05).

TBARS values: mg malondialdehyde/kg sample.

<sup>A</sup> From animals fed with different diets (C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) + α-tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + α-tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>)).

<sup>B</sup> D.M.: Dry matter.

**Table 3**Chemical composition,  $\alpha$ -tocopherol content and TBARS values of *Semimembranosus*/ *Semitendinosus* from dry-cured hams<sup>A</sup>

	Dietary treatment				
	C	L	LE	LO	LOE
Dry matter (g/100 g product)	59.77 $\pm$ 3.40	59.54 $\pm$ 5.49	58.63 $\pm$ 5.29	60.54 $\pm$ 3.53	58.11 $\pm$ 4.60
Fat (% D.M. <sup>B</sup> )	11.87 $\pm$ 3.13	12.68 $\pm$ 6.73	12.50 $\pm$ 3.41	12.03 $\pm$ 2.73	12.76 $\pm$ 5.69
Ash (% D.M. <sup>B</sup> )	9.17 $\pm$ 1.86	9.51 $\pm$ 2.41	8.67 $\pm$ 2.27	9.44 $\pm$ 1.66	8.97 $\pm$ 2.17
Chlorides (% D.M. <sup>B</sup> )	8.12 $\pm$ 0.96	8.03 $\pm$ 0.81	7.82 $\pm$ 1.21	8.56 $\pm$ 1.14	8.01 $\pm$ 0.84
Nitrites (mg/kg product)	2.07 $\pm$ 0.52	2.15 $\pm$ 1.02	1.84 $\pm$ 0.53	1.95 $\pm$ 0.84	2.61 $\pm$ 0.92
Nitrates (mg/kg product)	79.32 $\pm$ 14.22	83.55 $\pm$ 9.302	75.94 $\pm$ 9.63	75.59 $\pm$ 12.23	86.31 $\pm$ 8.68
pH	5.97 $\pm$ 0.18	5.96 $\pm$ 0.18	5.96 $\pm$ 0.17	5.93 $\pm$ 0.12	5.99 $\pm$ 0.12
$a_w$	0.871 $\pm$ 0.002	0.858 $\pm$ 0.003	0.841 $\pm$ 0.003	0.856 $\pm$ 0.003	0.860 $\pm$ 0.002
$\alpha$ -tocopherol (mg/kg product)	1.10 $\pm$ 0.30c	0.80 $\pm$ 0.11c	3.10 $\pm$ 1.21a	2.23 $\pm$ 1.04b	3.40 $\pm$ 0.94a
TBARS values (mg/kg product)	0.57 $\pm$ 0.23b	1.82 $\pm$ 0.36a	0.87 $\pm$ 0.13b	1.41 $\pm$ 0.23ab	0.81 $\pm$ 0.26b

a, b, c, d: means at the same row with different letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

TBARS values: mg malondialdehyde/kg simple.

<sup>A</sup> From animals fed with different diets (C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>)).<sup>B</sup> D.M.: Dry matter.

diets with linseed, olive oil and no tocopherol supplement) showed higher ( $p < 0.05$ )  $\alpha$ -tocopherol content than those L (from animals fed on diets with linseed and no tocopherol supplement). Olive oil is rich in tocopherol with contents of 7–30 mg/100 g (Mataix & Martínez de Victoria, 1988). This fact, could explain the high content of  $\alpha$ -tocopherol in the LO vs C and L, and LOE vs LE.

The fatty acid composition in the fat of the *Biceps femoris* and *Semimembranosus*/*Semitendinosus* muscles of dry-cured hams are shown in Tables 4 and 5. In both muscles eighteen fatty acids were quantified in all the batches, the most abundant one being the C18:1n-9 with values near 46%. Only four fatty acids showed significant ( $p < 0.05$ ) differences (C18:2n-6, C18:3n-3, C20:5n-3 in both muscles and C22:4n-6 in *Biceps femoris* and C22:5n-3 in *Semimembranosus*/*Semitendinosus*). The enrichment of the pig diet in linseed oil or linseed oil plus olive oil produced a significant

increase ( $p < 0.05$ ) in the fatty acids C18:3n-3 and C20:5n-3. The concentration of the n-3 PUFA in the batches of dry-cured ham could be ranked as L and LE > LO and LOE > C, that is in the same order as the  $\alpha$ -linolenic acid content in the feeds (Table 1). Of the n-3 PUFA, the most abundant was C18:3n-3 with values between 5% and 6% in batch LE, 4–5% in L, about 3.3% in LO and LOE, and 0.8% in batch C. The PUFA n-3 increase corresponded with a decrease of the n-6 PUFA. In general, observations include a high enrichment in the total PUFA n-3 and an important modification in the n-6/n-3 ratio that was reduced from values of 8.2 to 11.7 in batch C to approximated values of 2.6 in LO and LOE, and to 2.0 in L and LE. Similar fatty acid compositions and n-6/n-3 ratios were found in dry-cured loin manufactured with raw material from the same pigs used in this work (Hoz et al., 2007).

**Table 4**Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the *Biceps femoris* muscle of dry cured hams<sup>A</sup> from pigs fed with the experimental diets

Fatty acid	Dietary treatment				
	C	L	LE	LO	LOE
C12:0	0.05 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.09
C14:0	0.92 $\pm$ 0.10	0.87 $\pm$ 0.10	0.98 $\pm$ 0.12	0.84 $\pm$ 0.04	0.84 $\pm$ 0.08
C16:0	19.98 $\pm$ 0.91	19.85 $\pm$ 0.84	19.13 $\pm$ 0.88	19.87 $\pm$ 0.57	19.37 $\pm$ 0.55
C16:1n7	1.94 $\pm$ 0.60	1.89 $\pm$ 0.36	2.33 $\pm$ 0.16	1.94 $\pm$ 0.21	2.23 $\pm$ 0.28
C18:0	11.45 $\pm$ 1.38	12.02 $\pm$ 0.88	10.20 $\pm$ 0.35	11.6 $\pm$ 1.08	10.66 $\pm$ 1.01
C18:1n-9/1n-7	44.94 $\pm$ 0.93	44.67 $\pm$ 0.99	44.37 $\pm$ 0.87	46.60 $\pm$ 2.95	47.40 $\pm$ 1.92
C18:2n-6	15.11 $\pm$ 0.63a	11.67 $\pm$ 0.66b	12.25 $\pm$ 0.91b	11.61 $\pm$ 1.13b	11.51 $\pm$ 0.64b
CLA cis9-tr11	0.11 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.02	0.12 $\pm$ 0.01
C18:3n-6	0.08 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02
C18:3n-3	0.78 $\pm$ 0.11c	4.36 $\pm$ 0.58a	4.96 $\pm$ 0.36a	3.25 $\pm$ 0.60b	3.05 $\pm$ 0.12b
C20:0	0.21 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.03	0.17 $\pm$ 0.02	0.21 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.02
C20:1n-9	0.89 $\pm$ 0.09	0.85 $\pm$ 0.12	0.77 $\pm$ 0.12	0.94 $\pm$ 0.08	0.93 $\pm$ 0.09
C20:3n-6	0.48 $\pm$ 0.10	0.38 $\pm$ 0.07	0.46 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.06	0.41 $\pm$ 0.06
C20:4n-6	1.36 $\pm$ 0.45	0.92 $\pm$ 0.36	1.09 $\pm$ 0.52	0.87 $\pm$ 0.41	0.87 $\pm$ 0.20
C20:5n-3	0.47 $\pm$ 0.09b	1.48 $\pm$ 0.15a	1.34 $\pm$ 0.15a	0.92 $\pm$ 0.11ab	1.10 $\pm$ 0.14a
C22:4n-6	0.33 $\pm$ 0.06a	0.15 $\pm$ 0.06b	0.18 $\pm$ 0.06b	0.12 $\pm$ 0.03b	0.15 $\pm$ 0.04b
C22:5n-3	0.49 $\pm$ 0.15	0.55 $\pm$ 0.29	0.58 $\pm$ 0.15	0.51 $\pm$ 0.13	0.56 $\pm$ 0.19
C22:6n-3	0.37 $\pm$ 0.07	0.29 $\pm$ 0.15	0.28 $\pm$ 0.07	0.30 $\pm$ 0.07	0.30 $\pm$ 0.10
Total SFA	32.60 $\pm$ 2.18	33.06 $\pm$ 1.16	30.55 $\pm$ 0.73	32.56 $\pm$ 1.42	31.16 $\pm$ 1.41
Total MUFA	47.77 $\pm$ 0.47	47.40 $\pm$ 0.89	47.47 $\pm$ 1.02	49.48 $\pm$ 3.23	50.56 $\pm$ 1.95
Total PUFA	19.58 $\pm$ 1.17	19.98 $\pm$ 0.48	21.37 $\pm$ 0.83	18.12 $\pm$ 2.08	18.14 $\pm$ 0.72
n-6	17.36 $\pm$ 0.90a	13.20 $\pm$ 0.57b	14.07 $\pm$ 0.96b	13.06 $\pm$ 1.62b	13.02 $\pm$ 0.68b
n-3	2.11 $\pm$ 0.33c	6.68 $\pm$ 0.47a	7.16 $\pm$ 0.32a	4.98 $\pm$ 0.69b	5.01 $\pm$ 0.30b
n-6/n-3	8.22 $\pm$ 0.94a	1.97 $\pm$ 0.21c	1.96 $\pm$ 0.20c	2.62 $\pm$ 0.34b	2.59 $\pm$ 0.21b
h/H	3.07 $\pm$ 0.21	3.11 $\pm$ 0.19	3.25 $\pm$ 0.15	3.11 $\pm$ 0.12	3.23 $\pm$ 0.16

a, b, c: means of the same row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

h/H ratio: Hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic = (sum of C18:1n9, C18:2, C18:3, C20:4, C20:5, C22:4, C22:5, C22:6)/(sum of C14:0 y C16:0).

<sup>A</sup> Dry-cured hams of animals fed with different diets (C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>)).

**Table 5**Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the *Semitendinosus*/*Semimembranosus* muscle of dry cured hams<sup>A</sup> from pigs fed with the experimental diets

Fatty acid	Dietary treatment				
	C	L	LE	LO	LOE
C12:0	0.05 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.05	0.08 ± 0.02
C14:0	0.87 ± 0.14	1.00 ± 0.10	0.98 ± 0.13	0.82 ± 0.14	0.99 ± 0.10
C16:0	20.84 ± 0.82	19.40 ± 1.08	19.75 ± 0.83	19.77 ± 1.32	19.49 ± 0.76
C16:1n-7	2.34 ± 0.14	2.07 ± 0.29	2.33 ± 0.28	2.03 ± 0.25	2.47 ± 0.08
C18:0	11.21 ± 1.73	12.00 ± 0.31	10.06 ± 0.71	11.72 ± 0.87	10.39 ± 0.87
C18:1n-9/1n-7	44.38 ± 1.62	44.42 ± 3.04	44.69 ± 1.75	46.54 ± 1.21	47.77 ± 1.77
C18:2n-6	16.40 ± 1.55a	12.77 ± 2.94b	12.64 ± 1.13b	11.04 ± 0.62b	11.64 ± 0.69b
CLA cis9-tr11	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.02
C18:3n-6	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.03	0.07 ± 0.01
C18:3n-3	0.76 ± 0.15d	4.98 ± 0.65b	5.87 ± 0.31a	3.47 ± 0.49c	3.51 ± 0.66c
C20:0	0.21 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.22 ± 0.03	0.17 ± 0.04
C20:1n-9	0.88 ± 0.02	0.79 ± 0.18	0.73 ± 0.12	0.97 ± 0.12	0.89 ± 0.14
C20:3n-6	0.49 ± 0.06	0.38 ± 0.09	0.44 ± 0.09	0.37 ± 0.07	0.37 ± 0.08
C20:4n-6	0.95 ± 0.13	0.80 ± 0.25	0.78 ± 0.06	0.69 ± 0.17	0.76 ± 0.13
C20:5n-3	0.26 ± 0.07b	0.72 ± 0.04a	0.69 ± 0.05a	0.50 ± 0.14a	0.49 ± 0.08a
C22:4n-6	0.20 ± 0.07	0.19 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.13 ± 0.05	0.12 ± 0.04
C22:5n-3	0.26 ± 0.07c	0.72 ± 0.36a	0.69 ± 0.05a	0.50 ± 0.14b	0.49 ± 0.08b
C22:6n-3	0.27 ± 0.11	0.49 ± 0.11	0.36 ± 0.08	0.38 ± 0.18	0.26 ± 0.10
Total SFA	33.18 ± 2.56	32.68 ± 0.82	31.03 ± 1.13	32.60 ± 1.67	31.12 ± 1.70
Total MUFA	47.60 ± 1.77	47.26 ± 3.39	47.75 ± 1.44	49.54 ± 1.21	51.14 ± 1.83
Total PUFA	19.65 ± 1.90ab	21.14 ± 3.66a	21.76 ± 1.27a	17.36 ± 1.11b	17.87 ± 1.40b
n-6	18.12 ± 1.75a	14.21 ± 2.80b	14.09 ± 1.23b	12.29 ± 0.62b	12.96 ± 0.77b
n-3	1.55 ± 0.25c	6.91 ± 1.01a	7.61 ± 0.39a	4.85 ± 0.69b	4.75 ± 0.73b
n-6/n-3	11.69 ± 1.66a	2.05 ± 0.25b	1.85 ± 0.19b	2.53 ± 0.30b	2.73 ± 0.28b
h/H	2.94 ± 0.24	3.21 ± 0.23	3.19 ± 0.18	3.10 ± 0.32	3.19 ± 0.22

a,b,c means of the same row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

h/H ratio: Hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic = (sum of C18:1n9, C18:2, C18:3, C20:4, C20:5, C22:4, C22:5, C22:6)/(sum of C14:0 y C16:0).

<sup>A</sup> Dry-cured hams of animals fed with different diets (C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>)).

The h/H index (Tables 4 and 5) of the dry-cured hams that related the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic fatty acids (Santos-Silva, Bessa, & Santos-Silva, 2002), was not affected ( $p > 0.05$ ) by the pig diet.

The fatty acid composition and tocopherol content of pork were very much influenced by the porcine feed (Hoz et al., 2003). As a consequence of the fatty acid composition and the tocopherol content, the lipid oxidation of dry-cured ham could reach different degrees. In this work, the most oxidized dry-cured ham batch (Tables 2 and 3) was L with TBARs about 2.0 mg malondialdehyde/kg of ham, whereas the control batch and the experimental batches enriched in  $\alpha$ -tocopherol (LE and LOE) showed values about two times lower. The LO ham batch reached intermediate levels (about 1.3 mg malondialdehyde/kg of ham) probably because of the higher tocopherol accumulation in both muscles (Tables 2 and 3) derived from the pigs diet (Table 1). The observed differences between the TBARs values of dry-cured hams C (from animals fed on diets with 24 mg/kg  $\alpha$ -tocopherol, and 24.7 and 0.7 g/kg of C18:2 and C18:3, respectively) and L (from animals fed on diets with 31 mg/kg  $\alpha$ -tocopherol, and 10.3 and 15.4 g/kg of C18:2 and C18:3, respectively) could be attributed to the different content of PUFA (C18:2 and C18:3). Hams C had higher contents of C18:2 which is less susceptible to lipid oxidation than C18:3 (higher content in L hams). A similar result was found when dry-cured loin was manufactured using *Longissimus dorsi* muscle from animals fed with the same diet (Hoz et al., 2007).

After performing the study on *Biceps femoris* and *Semitendinosus*/*Semimembranosus* dry-cured ham muscles of  $L^*$  (lightness),  $a^*$  (redness) and  $b^*$  (yellowness) colour parameters at 0 (immediately after cutting the ham), 4 and 24 h of showing the dry-cured ham surface to the light and air (data not shown), it was observed that there were no differences ( $p > 0.05$ ) among dry-cured ham batches in any of the colour parameters ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ). A similar influence of the light and atmospheric oxygen exposure time in the three parameters  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  was detected in all the batches. In general,

a clear influence of air exposure time after cutting was observed in all batches with a decrease ( $p < 0.05$ ) of  $L^*$  (from about 34 to 30),  $a^*$  (from about 14 to 10) and  $b^*$  (from about 10 to 8.5) in values along with air exposure time (0 vs 24 h). The colour modifications could be attributed to the loss of superficial water and to the oxidative phenomena (Hoz et al., 2007; Hur et al., 2004; Perlo et al., 1995). These results are in agreement with those of other authors who do not find any effect of vitamin E supplementation on the colour stability of pork and pork products (Hoz et al., 2007; Jensen et al., 1997; Phillips et al., 2001; Zanardi, Novelli, Ghiretti, Dorigoni, & Chizzolini, 1999).

The sensory analysis carried out with the *Biceps femoris* muscle (Tables 6 and 7) of dry-cured hams showed clear variations among batches. In the triangular test, significant differences ( $p < 0.05$ ) were detected when batches C vs L, LE, LO and LOE; L vs LE, LO and LOE; LE vs LO and LOE and LO vs LOE were compared (Table 6). The testers indicated that the main reason they choose L or LO samples in the triangle test was because there was always the perception of rancid notes in flavour and odour.

**Table 6**Significance level of the results of the triangle test sensory analysis of *Biceps femoris* from dry cured ham<sup>a</sup>

Dietary treatment					
	C	L	LE	LO	LOE
C	x	$p < 0.005$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$
L	x	x	$p < 0.001$	$p < 0.05$	$p < 0.001$
LE	x	x	x	$p < 0.05$	$p < 0.05$
LO	x	x	x	x	$p < 0.05$
LOE	x	x	x	x	x

<sup>a</sup> From animals fed with different diets (C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>)).



**Table 7**Acceptance test of some sensorial attributes and overall acceptability of *Biceps femoris* from dry cured ham<sup>A</sup>

Dietary treatment	C	L	LE	LO	LOE
Colour	6.45 ± 1.01	6.59 ± 1.15	6.94 ± 1.33	6.01 ± 1.12	6.93 ± 0.90
Odour	6.36 ± 1.10a	4.55 ± 1.15b	6.57 ± 1.19a	6.13 ± 1.48a	6.68 ± 1.22a
Flavour	6.95 ± 1.29a	4.18 ± 1.38b	6.83 ± 1.04a	6.13 ± 1.48a	6.91 ± 1.47a
Texture	5.22 ± 2.39	5.82 ± 2.68	6.29 ± 2.03	5.82 ± 2.09	6.05 ± 1.90
Overall acceptability <sup>B</sup>	6.41 ± 1.05a	4.74 ± 1.21b	6.69 ± 1.35a	6.05 ± 1.55a	6.66 ± 1.82a

a, b: means at the same row with different letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).<sup>A</sup> From animals fed with different diets (C, control (sunflower oil, 30 g kg<sup>-1</sup>); L, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>); LE, linseed oil (30 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>); LO, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>); LOE, linseed oil (15 g kg<sup>-1</sup>) + olive oil (15 g kg<sup>-1</sup>) +  $\alpha$ -tocopheryl acetate (220 mg kg<sup>-1</sup>)).<sup>B</sup> Overall acceptability: (Colour × 0.1) + (Odour × 0.15) + (Flavour × 0.5) + (Texture × 0.25).

To establish the acceptance degree of the different dry-cured hams, an acceptance test which included colour, odour, flavour and texture was carried out (Table 7). As in the case of the CIELAB colour analysis, no differences in the sensory analysis of colour were found among batches. The odour and flavour of L dry-cured ham reached a lower score ( $p < 0.05$ ) than did the other batches. The overall acceptability was also significant ( $p < 0.05$ ); lower in the L dry-cured ham batch with values of  $4.74 \pm 1.21$ , while the remaining batches had values over 6.0. As indicated in the triangle test, samples of the L batch showed clear rancid notes in odour and flavour. This sensory characteristic is related to the results of TBARs determination. Dry-cured hams manufactured with legs from animals fed on diets enriched in linseed oil and a basal concentration of tocopherol acetate had a low  $\alpha$ -tocopherol content, the highest TBARs (Tables 2 and 3) and the lowest acceptance for odour, flavour and overall acceptability (Table 7). These results are in agreement with previous findings in other pork products such as dry fermented sausages (Hoz, D'Arrigo, Cambero, & Ordóñez, 2004) and dry-cured loin (Hoz et al., 2007).

Although dry-cured hams from animals fed on diets enriched only in linseed and olive oil (batch LO) showed odour, flavour and overall acceptability similar ( $p > 0.05$ ) to that of the LE and LOE, these results and those of general chemical composition (Tables 2 and 3) should be taken into consideration. In the dry-cured hams of batch LO, the TBARs were intermediate between the L and LE–LOE. In addition, some tester's comments indicate slight rancid notes in the samples of batch LO although no significant differences ( $p > 0.05$ ) were found in the overall acceptability. Both facts together indicate low lipid stability in these products.

According to these results and comments, it could be concluded that the manufacture of dry-cured hams enriched in PUFA  $n-3$  and that have a  $n-6/n-3$  ratio below 3 is possible. To assure the lipid stability and a satisfactory sensory quality, an increase in the  $\alpha$ -tocopherol level of the product by using supranutritional doses of tocopheryl acetate in the animal diet is necessary.

## Acknowledgments

This research was funded by the Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) and Ministerio de Ciencia y Tecnología with the project AGL 2000–0050–P4–02 and AGL 2003–05803. C. Santos was awarded a predoctoral scholarship by the Universidad Complutense de Madrid. Authors are thankful to Campofrío for their cooperation and technical assistance.

## References

- Alexander, J. W. (1998). Immunonutrition: The role of  $\omega-3$  fatty acids. *Nutrition*, 14(7/8), 627–633.
- Ansorena, D., & Astiasaran, I. (2004). The use of linseed oil improves nutritional quality of the lipid fraction of dry-fermented sausage. *Food Chemistry*, 87, 69–74.

- AOAC (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arneth, W., & Herold, B. (1988). Nitrate and nitrite determination in sausages after enzymatic reduction. *Fleischwirtschaft*, 68, 761–764.
- Baublits, R. T., Pohlman, F. W., Brown, A. H., Rule, D. C., Johnson, Z. B., Onks, D. O., et al. (2006). Comparison of fatty acid and sensory profiles of beef from forage-fed cattle with retail united states department of agriculture choice and select beef. *Journal of Muscle Foods*, 17, 311–329.
- British Nutrition Foundation (1992). *Unsaturated fatty acids: Nutritional and physiological significance. The report of the British Nutrition Foundations Task Force*. London: Ed. Chapman & Hall.
- Bruna, J., Fernandez, M., Ordóñez, J. A., & Hoz, L. (2002). Enhancement of the flavor development of dry fermented sausages by using a protease (Pronase E) and a cell-free extract of *Penicillium camemberti*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 526–533.
- Guardia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2006). Consumer attitude towards sodium reduction in meat products and acceptability of fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science*, 73, 484–490.
- Hanson, S. W. F., & Olley, J. (1963). Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochemical Journal*, 89, 101P–102P.
- Henning, W. R., Moody, W. G., Kemp, J. D., & Fox, J. D. (1973). Influence of muscle quality on the relative weight loss and palatability of intact and dissected dry-cured hams. *Journal of Animal Science*, 37, 879–884.
- Hertzman, C., Göransson, L., & Rudérus, H. (1988). Influence of fishmeal, rape-seed, and rape-seed meal in feed on the fatty acid composition and storage stability of porcine body fat. *Meat Science*, 23, 37–53.
- Hoz, L., Cambero, I., Santos, C., Herranz, B., & Ordóñez, J. A. (2007). Fatty acids and sensory characteristics of Spanish dry-cured loin enriched on acid  $\alpha$ -linolenic and  $\alpha$ -tocopherol. *Food Chemistry*, 101, 1701–1706.
- Hoz, L., D'Arrigo, M., Cambero, I., & Ordóñez, J. A. (2004). Development of an  $n-3$  fatty acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched dry fermented sausage. *Meat Science*, 67, 485–495.
- Hoz, L., Lopez-Bote, C. J., Cambero, I., D'Arrigo, M., Pin, C., Santos, C., et al. (2003). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle. *Meat Science*, 65, 1039–1044.
- Hur, S. J., Ye, B. W., Lee, J. L., Ha, Y. L., Park, G. B., & Joo, S. T. (2004). Effects of conjugated linoleic acid on color and lipid oxidation of beef patties during cold storage. *Meat Science*, 66, 771–775.
- ISO (1981a). Analyse sensorielle guide pour l'implantation d'un local destiné aux analyses sensorielles. (ISO-DP 6658). International Organization for Standardization: Genève, Switzerland.
- ISO (1981b). Analyse sensorielle. Methodologie. Essai Triangulaire. Norma I.S.O./TC 34/SC 12. International Organization for Standardization. Genève, Switzerland.
- ISO (1996). Determination of chloride content. Part 1. Volhard method, Norma I.S.O. 1841-1. International Organization for Standardization. Geneva.
- Jensen, C., Guidera, J., Skovgaard, I. M., Staun, H., Skibsted, L. H., Jensen, S. K., et al. (1997). Effects of dietary alpha-tocopheryl acetate supplementation on alpha-tocopherol deposition in porcine m. *psoas major* and m. *longissimus dorsi* and on drip loss, colour stability and oxidative stability of pork meat. *Meat Science*, 45, 491–500.
- Kjos, N. P., Skrede, A., & Overland, M. (1999). Effects of dietary fish silage and fish fat on growth performance and sensory quality of growing-finishing pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 79(2), 139–147.
- Lyon, D. H., Francombe, M. A., Hasdell, T. A., & Lawson, K. (1992). *Guidelines for sensory analysis in food product development and control*. London: Ed. Chapman & Hall.
- Mataix, F. J., & Martínez de Victoria, E. (1988). El aceite de oliva. Bases para el futuro. Diputación Provincial de Jaén.
- Muguerza, E., Ansorena, D., & Astiasaran, I. (2004). Functional dry fermented sausages manufactured with high levels of  $n-3$  fatty acids: nutritional benefits and evaluation of exudation. *Journal of the Science Food Agriculture*, 84, 1061–1088.
- Nuernberg, K., Fischer, K., Nuernberg, G., Kuechenmeister, U., Klosowska, D., Eliminowska-Wenda, G., et al. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil

- on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Science*, 70(1), 63–74.
- Perlo, F., Gago-Gago, A., Rosmini, M., Cervera-Perez, R., Perez-Alvarez, J., Pagan-Moreno, M., et al. (1995). Modification of physico-chemical and colour parameters during the marketing of pate. *Meat Science*, 41, 325–333.
- Phillips, A. L., Faustman, C., Lynch, M. P., Govoni, K. E., Hoagland, T. A., & Zinn, S. A. (2001). Effect of dietary alpha-tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. *Meat Science*, 58, 289–293.
- Rey, A., Lopez-Bote, C., Soares, M., & Isabel, B. (1997). Determination of  $\alpha$ -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y Aceites*, 47, 331–334.
- Rose, D. P., & Connolly, J. M. (1999). Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 217–244.
- Salih, A. M., Smith, D. M., & Dawson, L. E. (1987). Modified extraction of 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science*, 66, 1483–1488.
- Santos, C., Ordoñez, J. A., Cambero, M. I., D'Arrigo, M., & de la Hoz, L. (2004). Physicochemical characteristics of an  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched cooked ham. *Food Chemistry*, 88, 123–128.
- Santos-Silva, J., Bessa, R. J. B., & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 77, 187–194.
- SAS (2001). *SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 8.2*, Cary, NC: Institute Inc.
- Simopoulos, A. P. (1997).  $\omega$ -3 fatty acids in the prevention-management of cardiovascular disease. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology*, 75, 234–239.
- Simopoulos, A. P. (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20, 77–90.
- Valencia, I., Ansorena, D., & Astiasaran, I. (2006). Nutritional and sensory properties of dry fermented sausages enriched with  $n$ -3 PUFAs. *Meat Science*, 72, 727–733.
- Valsta, L. M., Tapanainen, H., & Mannisto, S. (2005). Meat fats in nutrition. *Meat Science*, 70, 525–530.
- Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (2000). Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*, 78, 958–960.
- Zanardi, E., Novelli, E., Ghiretti, G. P., Dorigoni, V., & Chizzolini, R. (1999). Colour stability and vitamin E content of fresh and processed pork. *Food Chemistry*, 67, 163–171.



# DISCUSIÓN GENERAL

“Lo que hoy es realidad, fue ayer fantasía y será mañana recuerdo. No hay hecho que no haya sido sueño una vez ni invento que no haya sido una vez ilusión”.

Joseph L. Fetterman





## **1. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS DEL CERDO**

La investigación que se recoge en la presente tesis forma parte de un estudio más amplio financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT). Se le concedieron tres proyectos al equipo investigador. Uno, el ALI98-0705, titulado "Elaboración de productos cárnicos enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3"; otro, el AGL2000-0050-P4-02, titulado "Elaboración de jamones serranos enriquecidos en vitamina E y ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3"; y un tercero, el AGL2003-05803, de título "Efecto cualitativo y cuantitativo de la ingesta calórica y del ciclo productivo en las características de productos cárnicos ibéricos curados (jamón y lomo)". El fin global de estos proyectos era, dicho de forma resumida, mejorar la calidad nutritiva de la carne de cerdo y de los productos derivados de la misma. Son diversas alternativas las que se pueden utilizar para producir carne y productos cárnicos del cerdo más saludables. Unas, están basadas en la eliminación o reducción de la concentración de distintos componentes, como el colesterol o el contenido total de materia grasa; algunas, implican el enriquecimiento o incorporación de ciertos nutrientes o componentes convenientes para la salud, como son las vitaminas y minerales o la adición de fibra alimentaria y, finalmente, otras conllevan la modificación de la composición natural de ciertas sustancias, como es el perfil de ácidos grasos, con el fin de aumentar la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de la familia n-3 (PUFAs n-3). Esta última alternativa es la que se ha elegido en el presente trabajo para mejorar la calidad nutritiva de la carne de cerdo y muchos de los productos derivados de la misma.

El aumento de la riqueza de PUFAs n-3 puede, a su vez, acometerse en tres vertientes. En el apartado 1.8. de la Introducción se hace un análisis más detallado de las mismas. Valga ahora con un pequeño resumen. Una de ellas es mediante técnicas genéticas que no se va a discutir en este capítulo pero se analiza en el apartado 1.8.3. de la Introducción. Otra de las estrategias es mediante la mera incorporación de extractos de éstos ácidos grasos o componentes que los contengan en la formulación de productos cárnicos. Así, se ha utilizado aceite procedente de pescado en la elaboración de productos cárnicos de los tipos mortadela, hamburguesa (Cáceres y col., 2008;

Lee y col., 2006a,b) y embutidos fermentados (Muguerza y col., 2004; Valencia y col., 2006), o bien aceite de algas en la fabricación de hamburguesas de pavo y salchichas frescas (Lee y col., 2005; López-López y col., 2009a,b). Igualmente, se ha usado linaza en la preparación de embutidos fermentados (Ansorena y Astiasarán, 2004a; Pelser y col., 2007). El principal problema de esta estrategia es lograr una adecuada estabilización del extracto, normalmente aceite. El procedimiento más oportuno depende del tipo de producto que se desee elaborar, del material lipídico que se utilice y del grado de modificación que se pretenda. Se ha ensayado la incorporación de extractos como tal, preemulsiones e ingredientes encapsulados.

La otra estrategia es mediante la alimentación del animal con piensos que contengan ingredientes ricos en PUFAs n-3. Un material apto para que el cerdo ingiera con el pienso ácido linolénico (ALA) es el aceite o semillas de lino, quizás, la fuente vegetal más rica de este ácido graso sin que, al tiempo, contenga grandes concentraciones de otros PUFAs de la familia n-6. En la Introducción (apartado 1.8.2) se han analizado diversos aspectos relacionados con esta alternativa y ahora sólo se va a reiterar la necesidad de controlar los efectos no deseables derivados del enriquecimiento de la carne y productos cárnicos con ALA. De forma resumida, se debe tener en cuenta que: a) un enriquecimiento excesivo puede originar una carne más blanda y, por tanto, de inferior calidad (Hays y Preston, 1994; Cameron y col., 2000; Jorgensen y col., 1996; Rosenvold y col., 2002); b) un contenido elevado de PUFAs aumenta la susceptibilidad a la oxidación pudiendo ocasionar una reducción de la vida útil del producto (Wood y Enser, 1997; Rosenvold y col., 2002; Wood y col., 2008), lo que requiere una mayor atención en algunos de los alimentos que en esta investigación se han utilizado como modelo, el lomo y jamón curados, debido a su largo periodo de maduración y c) el producto cárnico que se elabore debe gozar de las mismas características sensoriales que los equivalentes productos convencionales.

Dentro de los objetivos de los proyectos subvencionados por la CICYT antes mencionados, se realizó previamente al presente trabajo, una serie de experimentos que constituyó la tesis doctoral de la doctora D'Arrigo (2003). Se pretendía ilustrar el potencial de la

estrategia de administrar a cerdos piensos enriquecidos en ALA para mejorar la calidad de la carne. Se estudió el efecto del aceite de semillas de lino en diversas propiedades de la grasa del cerdo (D'Arrigo y col., 2002a), en la composición lipídica del tejido hepático y en su susceptibilidad a la oxidación (D'Arrigo y col., 2002b), y en el músculo *Psoas major* (Hoz y col., 2003) en cuyos experimentos participó activamente el autor de la presente memoria, por lo que se ha incluido como estudio inicial. Asimismo, se elaboraron dos productos cárnicos de distinta naturaleza enriquecidos en ácidos grasos de la familia n-3: paté (D'Arrigo y col., 2004) y salchichón (Hoz y col., 2004). Con esta tesis se continúan los estudios, comenzando con el trabajo inicial que más arriba se ha indicado en el que el material escogido fue el músculo *Psoas major*, que corresponde al solomillo, como modelo de carne magra. Después, se hizo una serie de análisis con el fin de conocer la calidad nutricional de los jamones elaborados en España, en lo que se refiere a su contenido en ácidos grasos y, de forma, especial en el de PUFAs. Para finalizar, se elaboraron dos productos cárnicos genuinos de la industria española enriquecidos en PUFAs n-3 que son, quizás, los más apreciados por los consumidores y, desde luego, los que alcanzan un mayor valor en el mercado. En ellos se hicieron los estudios oportunos incluyendo un análisis sensorial pertinente que demostrara su aceptación, o no, por el consumidor.

## 1.1. CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA FAMILIA n-3 EN DIVERSOS ALIMENTOS CONVENCIONALES

La Dra. D'Arrigo (2003) confeccionó una tabla en su tesis que después se publicó en un artículo de difusión científica (Ordóñez y col., 2003), cuyo objetivo era comparar el contenido de PUFAs n-3 de diferentes alimentos convencionales con los de la carne y productos cárnicos enriquecidos en ALA. Las tablas D.1.a. y D.1.b. son una modificación de la original en las que se han agrupado ciertos alimentos y se han incluido productos nuevos convencionales (salamis, cecina y jamón curado) y otros enriquecidos en ALA. Entre los productos de la tabla D.1.a. destacan los pescados grasos por su elevado contenido en grasa y su alta concentración de PUFAs n-3, proporcionando una relación PUFAs n-6/n-3 extremadamente baja con un valor máximo de 1,13 pero lo más importante es que una ración (200 g) de pescado graso suministra, en términos generales, casi tres veces más ácidos grasos n-3 que los 1,95 g (1,7 g de ALA + 0,25 g de EPA+DHA) al día recomendados por la EFSA, debido sobre todo a la abundancia de AGs n-3 de cadena larga (C20:4, EPA, DPA, DHA). Aunque el aporte absoluto de ALA queda por debajo de las cantidades recomendadas (cerca de un 30% respecto al total recomendado), la mencionada ración aporta más de 17 veces la cantidad diaria de EPA+DHA recomendada por la EFSA". El pescado magro, representado en la tabla por el bacalao, contiene los mismos PUFAs pero su contenido en grasa es muy bajo. Ante esta riqueza de PUFAs n-3, no es de extrañar que se hayan utilizado extractos desodorizados de pescados grasos para incluirlos en las fórmulas para la elaboración de distintos productos cárnicos con el fin de enriquecerlos en PUFAs n-3 (Cáceres y col., 2008; Lee y col., 2006a,b; Muguerza y col., 2004; Valencia y col., 2006). Las algas "espagueti de mar" (*Himanthalia elongata*), "wakame" (*Undaris pinnatifida*) y "nori" (*Porphyra umbilicalis*) poseen entre 35 y 40% de ácidos grasos saturados (Cofrades y col., 2010), en su mayoría correspondientes al C16:0 (alrededor del 30%) pero contienen también, como se refleja en la tabla D.1.a., una elevada concentración de PUFAs n-3 (entre el 35 y

el 50%), superando en exceso la concentración de PUFAs n-6 que no llega al 10% (Cofrades y col., 2010). Estos valores explican el uso de estas algas como materia prima para la preparación de extractos y para su adición a diversos productos cárnicos (López-López y col., 2009a,b).

Como refleja su estado sólido a temperatura ambiente, la mantequilla, de forma natural, y la margarina, obtenida vía tecnológica mediante hidrogenación forzada, presentan un elevado porcentaje de ácidos grasos saturados. Aunque el de las margarinas es variable (alrededor del 22% en las blandas y del 56% en las duras) habitualmente es más elevado el de la mantequilla (alrededor del 63%) pero a la margarina hay que considerarla también como de alto nivel de saturación, al igual que la grasa de cerdo con un contenido típico de ácidos grasos saturados del orden del 34% (D'Arrigo y col., 2002a) - 41% (Wood y col., 2008) o la de vacuno y oveja, con un 42-45% (Wood y col., 2008). A pesar de ello, es poco saludable por otras razones como, principalmente, la riqueza en ciertos ácidos grasos saturados (C14:0 y C16:0) que influye poderosamente en el nivel de colesterol en sangre. No se realizarán comentarios adicionales al respecto por desviarse del objetivo principal del trabajo. La margarina es, sin lugar a dudas, el producto de peor calidad nutritiva dentro del contexto que se está tratando. En la tabla D.1.a. se ofrecen valores medios de los PUFAs n-3 de margarinas obtenidas a partir de aceites de maíz, soja y girasol (Jandacek, 1992). En el proceso de hidrogenación, los PUFAs se transforman en su gran mayoría en ácidos grasos saturados hasta tal punto que se ha informado que en el caso de la margarina elaborada con aceite de soja (Leaf y Weber, 1987) del 8% de ALA que posee pasa a contener en el producto final niveles del orden del 0,4%. El proceso conlleva, pues, una dramática reducción del contenido en ALA y otros ácidos grasos insaturados. Además, durante dicho proceso se origina un elevado número de ácidos grasos *trans* (Ratnayake y col., 1990; Craig-Schmidt, 1992) con valores de hasta el 36-40% (Enig y col., 1983; Marchand, 1982) aunque los valores medios rondan el 25% (Craig-Schmidt, 1992). Las consecuencias fisiológicas de la ingesta de ácidos grasos *trans* pueden

leerse en diversos artículos recientes (Semma, 2002; Stender y Dyertberg, 2004; Mozaffarian y col., 2006; Dhaka y col., 2011).

Como cabe suponer, los datos existentes en la bibliografía sobre el contenido de PUFAs n-3 de las carnes magras son variables al depender, por una parte, de la especie animal de procedencia y, por otra de factores individuales (sexo, edad, etc.) de la especie y, sobre todo, de la alimentación (véase apartado 1.7. de la Introducción). En la tabla D.1.a. se muestra un intervalo de valores típicos. En general, puede decirse que son muy pobres en estos ácidos grasos, llegando en el caso más favorable a un exiguo 0,15% en producto fresco y, por tanto, poca influencia puede tener en el contexto general nutricional de los humanos dado que, junto a la baja riqueza en PUFAs n-3, se une su escaso contenido en grasa. Las necesidades de este ácido graso esencial (ALA) no se cubrirían con el consumo de una ración de carne (200 g). La chuleta de cerdo es un material con una mayor concentración de grasa pero aun así tampoco mejora la calidad nutricional de los lípidos ya que los ácidos grasos saturados alcanzan valores realmente altos, del orden del 34% (Mataix, 2004) y 41% (Wood y col., 2008) y el contenido de PUFAs es muy bajo.

Otros productos convencionales procedentes de tejidos porcinos, como las salchichas frankfurt y el paté, son de composición variable, ya que dependen de las formulaciones que cada industria trace. En la tabla D.1.a. se ofrecen unas composiciones con un elevado contenido en grasa. Presentan escasez de PUFAs n-3 al proceder de materiales pobres en estos componentes.

Los productos curados hay que considerarlos por separado ya que no son alimentos que se consuman inmediatamente después de su fabricación sino tras tiempos largos de almacenamiento. Su larga vida útil deriva en unos, como los embutidos (salchichón y salami), del bajo pH derivado de la fermentación y la relativa baja actividad de agua como consecuencia de la adición de sales y de la deshidratación parcial y, en otros (jamón y cecina), de las sales añadidas y la deshidratación durante el proceso madurativo. La diferencia con las carnes frescas, aparte de la estabilidad de aquellos, es que durante el proceso de curado se producen oxidaciones que, controladas y



reguladas, participan en el sabor y aroma del producto final. Este efecto beneficioso puede conllevar problemas tecnológicos si se enriquecen los productos en PUFAs n-3, ya que a mayor insaturación, más susceptibles son al progreso del enranciamiento oxidativo. Sobre las propiedades nutricionales, desde el punto de vista lipídico puede decirse que los embutidos presentan un mayor contenido en grasa, resultado de la formulación. Véase en la tabla D.1.a. la amplia horquilla en el contenido de material lipídico de los salamis que, en algunos casos, los más grasos duplican a los más magros. En el salchichón, ocurre lo mismo pero el recogido en la tabla presenta un nivel de materia grasa que raya en el nivel más elevado de los salamis. La cecina y jamón curado, en cambio, contienen un porcentaje de grasa más próximo al de los productos frescos, excepto en el caso del jamón ibérico debido al carácter adipogénico de la estirpe porcina de que deriva con un contenido significativamente mayor de grasa inter- e intramuscular que la de los cerdos seleccionados por su contenido en carne magra. En cuanto al perfil de PUFAs n-3 poco puede añadirse a lo ya explicado para los productos frescos. Los valores más reducidos de PUFAs n-3 tanto en embutidos como en jamones probablemente surjan de una alimentación de los cerdos con piensos con bajos contenidos de PUFAs n-3.

Aunque las agencias nutricionales no consideren actualmente la relación PUFAs n-6/n-3 de los alimentos conviene mencionar, con fines comparativos de otros estudios, que los productos cárnicos convencionales que figuran en la tabla D.1.a. rondan, en términos medios, el valor 10. Está en el límite superior del dictaminado por la FAO/WHO y, desde luego, muy por encima del valor <6 fijado por la BNF en 1992 (véase tabla I.2. de la Introducción). Entre los productos cárnicos que se muestran en la tabla D.1.a., los procedentes de cerdos alimentados con una dieta más natural quizás sean los jamones ibéricos, ya que los animales se cebaron en régimen de montanera. Pues ni siquiera en estos se logra una relación PUFAs n-6/n-3 cercana al valor máximo definido por las agencias nutricionales, ya que la media está por encima de 10. Se ha comentado en el apartado 1.5.3. de la Introducción que dicha relación es un tanto artificiosa pero en este caso particular ha de tomarse

como rigurosa y cabal por proceder de una alimentación omnívora que proporciona la Naturaleza directamente (bellotas, hierbas y frutos, anélidos, etc.). Considerando la riqueza en PUFAs en términos absolutos tampoco puede decirse que los nutrientes PUFAs n-3 sean suficientes. Una ración de 100 g (tomando un porcentaje de grasa medio de los jamones ibéricos de 12,65) aportaría unos 50 mg de ALA y 30 mg de EPA + DHA, muy por debajo de los 1700 mg y 250 mg respectivamente asignados por la EFSA, ya que equivaldrían a un 3% y un 12% respecto a dicha recomendación.

**Tablas D.1.a y D.1.b.**

**Tabla D.1.a. Contenido en grasa (g / 100 g producto) y en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (g / 100 g grasa) de diversos grupos de alimentos convencionales (pescado, mantequilla, margarina y cárnicos).**

Productos convencionales	% Grasa	Total n-3	18:3	18:4	20:4	20:5	22:5	22:6	n-6/n-3
<b>Productos frescos</b>									
Bacalao (1)	0,70	47,14	Tr	Tr	ND	15,71	1,43	30,0	0,06
Pescados grasos* (1)	7,5-16,1	16,5-30,0	0,76-3,05	1,27-2,54	Tr-0,59	7,54-11,53	Tr-1,36	6,95-10,93	0,08-1,13
Algas (15)	< 1,50	34,7-50,7	0-9,94	13,9-21,2	0,39-1,5	5,97-36,31	SI	SI	0,11-0,27
Mantequilla (2)	82,2	0,96	0,96	Tr	ND	Tr	Tr	ND	4,50
Margarina (3)	80,0	0,45	0,45	ND	ND	ND	ND	ND	>30
Carne magra** (4)	2,8-4,4	0,28-3,61	0,28-1,94	ND	ND	Tr	Tr-1,11	0 - 0,56	4 - 14
Chuleta cerdo (5)	15,7	1,02	0,76	ND	ND	0,19	Tr	0,06	8 - 14
Solomillo cerdo (9)	≈7,7	2,13	1,27	0,08	0,18	0,04	0,33	0,20	11,23
Salch. frankfurt (5)	25,4	1,18	0,79	ND	0,39	ND	ND	ND	9,00
Paté hígado (7)	39,72	2,07	1,03	0,08	0,35	0,04	0,31	0,23	9,32
Jamón cocido (13)	6,22	1,69	0,70	0,10	0,12	0,08	0,38	0,24	10,5
<b>Productos curados</b>									
Salchichón (6)	31,94	1,45	0,80	0,09	0,18	0,03	0,20	0,12	12,05
Salami europeo (10)	12,9-29,7	0,74-1,27	0,36-0,81	ND	ND	ND	0,02-0,2	0,1-0,28	8,74-14,64
Salami americano (10)	16,2-28,2	0,86-2,94	0,55-1,54	ND	ND	ND	0,05-0,8	0,07-0,44	7,26-15,87
Lomo curado (11)	2,51	1,43	0,83	ND	ND	0,21	0,19	0,12	13,40
Cecina caballo (8)	3,40	5,49	4,50	Tr	Tr	0,51	Tr	0,48	5,07
Jamón serrano (12,14)	7,92-8,11	0,82-2,11	0,51-0,78	ND	ND	0,11-0,47	0,1-0,49	0,1-0,37	8,22-13,55
Jamón ibérico (12)	11,6-13,7	0,59-0,77	0,34-0,46	ND	ND	0,09-0,16	0,07	0,08-0,15	9,36-13,75

\*Sardina, caballa y salmón (1). \*\*Magro de vacuno (4), cerdo (4,9), cordero (4) y pollo (4).

**Referencias:** (1) Ackman, 1994; (2) Jensen, 1992; (3) Jandacek, 1992; (4) Rhee, 1992; (5) Mataix, 2004; (6) Hoz y col., 2004; (7) D'Arrigo y col., 2004; (8) Paleari y col., 2003; (9) Hoz y col., 2003; (10) Herranz y col., 2008; (11) Hoz y col., 2007; (12) Fernández y col., 2007; (13) Santos y col., 2004; (14) Santos y col., 2008; (15) Cofrades y col., 2010.

Tr: traza. ND: no detectado. SI: sin información.

**Tabla D.1.b. Contenido en grasa (g / 100 g producto) y en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (g / 100 g grasa) de carne (solomillo) y productos cárnicos (salchichón, paté, jamón cocido, lomo curado y jamón curado) enriquecidos en ácido linolénico.**

Productos enriquecidos en ALA	% Grasa	Total n-3	18:3	18:4	20:4	20:5	22:5	22:6	n-6/n-3
Solomillo cerdo LE (9)	≈7,7	9,24	7,50	0,08	0,82	0,07	0,50	0,22	1,64
Salchichón LE (6)	33,03	7,87	6,40	0,09	0,90	0,07	0,22	0,13	1,79
Paté hígado LE (7)	38,70	8,07	6,52	0,08	0,93	0,06	0,32	0,13	1,68
Jamón cocido LE (13)	6,29	6,93	5,26	0,09	0,70	0,08	0,49	0,21	1,91
Lomo curado LE (11)	2,21	7,80	6,40	ND	ND	0,96	0,24	0,12	2,00
Jamón curado LE (14)	8,19	7,16	4,96	ND	ND	1,34	0,58	0,28	1,96

**Referencias:** (6) Hoz y col., 2004; (7) D'Arrigo y col., 2004; (9) Hoz y col., 2003; (11) Hoz y col., 2007; (13) Santos y col., 2004; (14) Santos y col., 2008.

ALA: ácido linolénico. LE: procedente de cerdos alimentados con piensos enriquecidos en ALA y  $\alpha$ -tocoferol. ND: no detectado.

La discusión anterior inclina a concluir que los alimentos de origen animal convencionales (salvo los pescados) no poseen una riqueza de PUFAs n-3 que permita considerarlos de calidad saludable. En primer lugar en lo que al esencial LA se refiere, no se ha recogido en la tabla porque el trabajo hace especial énfasis en los AG n-3 pero adviértase en los manuscritos del capítulo de resultados que los AG n-6 de los controles alcanzan valores de 23,92% en el solomillo (Hoz y col., 2003), 5,99-8,11% en los jamones ibéricos (Fernández y col., 2007), 17,2% en el lomo curado (Hoz y col., 2007), 17,8% en el jamón cocido (Santos y col., 2004) y 17,36% en el jamón curado de cerdo blanco (Santos y col., 2008). Teniendo en cuenta el contenido en grasa que figura en la tabla D.1.a., una dieta de 200 g en los productos frescos (solomillo y jamón cocido) y de 100 g en los

curados (lomo y jamones ibérico y de cerdo blanco), proporcionarían un suministro de AG n-6 de no más de 4 g cuando la ingesta aceptable establecida por la EFSA es de 17 g.

En relación con los PUFAs n-3, ninguno de los productos cárnicos recogidos en la tabla D.1.a. presenta un valor de estos nutrientes que se acerque a las necesidades totales que se han fijado recientemente (EFSA, 2010). Los casos más favorables quizás sean los de las carnes muy magras, representados en la tabla D.1.a. por el solomillo, ya que una ración (200 g) proporciona unos 200 mg de ALA, lejos de lo especificado por la EFSA y tampoco cubre las necesidades de EPA + DHA. Piénsese que el solomillo procede de un músculo individual, el *Psoas major*, sin apenas grasa, por lo que sus lípidos están concentrados fundamentalmente en las membranas celulares, donde se localizan los fosfoacilglicerol que son los componentes que esencialmente contienen los PUFAs. Esta situación no es normal en otras piezas anatómicas del cerdo que siempre van acompañadas de porciones de tejido adiposo (grasa neutra compuesta sobre todo por triacilglicerol) el cual rebaja poderosamente la riqueza en PUFAs n-3. Compárese, a tal efecto, la composición del solomillo con la de la chuleta de cerdo (tabla D.1.a.) y se advertirá tanto la menor concentración de ALA como la riqueza tan exigua de los PUFAs n-3 de cadena larga. En consecuencia, otras piezas cárnicas aportarían una menor cantidad de ácidos grasos n-3 por unidad de grasa.

## **1.2. CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS PROCEDENTES DE CERDOS ALIMENTADOS CON PIENSOS ADICIONADOS CON ACEITE DE LINAZA**

Con el fin de ilustrar el potencial de la estrategia de enriquecer los productos cárnicos mediante la alimentación del animal con piensos fabricados con ingredientes ricos en ALA se han tomado como modelos en el presente trabajo carne fresca de cerdo, usando como muestra el solomillo, y tres productos cárnicos de vida útil larga; uno, jamón cocido, una semiconserva nitrificada, como representante de una amplia variedad de productos fabricados con la misma tecnología (mortadela, chópéd, galantina y otros fiambres nitrificados) y los otros dos sometidos a maduración, lomo y jamón curado, que se diferencian en que el primero se elabora con prácticamente solo un músculo (*Longissimus dorsi*) y el jamón con todos los componentes del pernil (músculos, fascias, ligamentos, etc.). Los resultados completos quedan recogidos en los artículos I, II, IV y V. Ahora sólo se discutirán los aspectos relativos a las modificaciones en los contenidos de ácidos grasos como resultado de la alimentación de los cerdos con el pienso adicionado de aceite de linaza y  $\alpha$ -tocoferol (lote LE) (tabla D.2.) por ser el más relevante en el contexto del objetivo del trabajo. Se ha omitido el lote enriquecido sólo con aceite de linaza, sin  $\alpha$ -tocoferol (lote L), porque los niveles de ácidos grasos en ambos lotes son muy similares. Por tanto, todo lo que se discuta para el lote LE es totalmente válido para el L excepto lo que se refiere al contenido en  $\alpha$ -tocoferol y la autooxidación lipídica que se analizarán más adelante. Se excluyen también los datos de los lotes enriquecidos en aceite de oliva y linaza con y sin  $\alpha$ -tocoferol (lotes LOE y LO) por ser menos notorios al respecto.

Una primera fase del estudio iba destinada a conocer el efecto de los piensos adicionados de aceite de linaza en el nivel de ácidos grasos de la carne magra. Se tomó como modelo el solomillo (tabla D.2.), un material que se separa fácilmente de la canal, consta de un

solo músculo (el *Psoas major*) y una vez aislado está prácticamente libre de otros tejidos como el adiposo o el conjuntivo.

**Tabla D.2. Composición en ácidos grasos (g / 100 g grasa) de productos cárnicos enriquecidos en PUFAs n-3.**

Ácido graso	Solomillo ( <i>Psoas major</i> )		Jamón cocido		Lomo curado ( <i>Longissimus dorsi</i> )		Jamón curado ( <i>Biceps femoris</i> )	
	CONTROL	LE	CONTROL	LE	CONTROL	LE	CONTROL	LE
C12:0	0,07	0,07	0,10	0,09	0,04	0,04	0,05	0,06
C14:0	0,94	1,11	1,00	1,05	0,94	0,83	0,92	0,98
C16:0	21,63	22,75	21,50	20,90	21,27	20,40	19,98	19,13
C16:1n-9	0,44a	0,34b	0,39	0,34	ND	ND	ND	ND
C16:1n-7	1,37	1,52	1,96	2,26	0,37a	0,27b	1,94	2,33
C18:0	11,81	13,35	11,20	10,90	12,60	11,50	11,45	10,20
C18:1n-9	35,63	34,96	42,50	42,70	43,30	42,30	44,94	44,37
C18:2n-6	22,70a	14,50b	16,70a	12,40b	16,70a	13,63b	15,11a	12,25b
C18:2n-3	0,03	0,06	0,09	0,08	ND	ND	ND	ND
C18:3n-6	0,08	0,06	0,09	0,04	0,06	0,05	0,08	0,09
C18:3n-3	1,27b	7,50a	0,70b	5,26a	0,83b	6,40a	0,78b	4,96a
C18:4n-3	0,08	0,08	0,10	0,09	ND	ND	ND	ND
C20:0	0,17	0,16	0,18	0,16	0,25	0,25	0,21	0,17
C20:1n-9	0,82	0,65	0,82	0,83	0,95	0,91	0,89	0,77
C20:3n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,48	0,46
C20:3n-9	0,86b	0,50a	0,78	0,64	ND	ND	ND	ND
C20:4n-6	0,90	0,49	0,89	0,54	0,35a	0,22b	1,36	1,09
C20:4n-3	0,18b	0,82a	0,12b	0,70a	ND	ND	ND	ND
C20:5n-3	0,04b	0,07a	0,08	0,08	0,21b	0,96a	0,47b	1,34a
C22:1n-9	0,04	0,05	0,07	0,05	ND	ND	ND	ND
C22:4n-6	0,24	0,13	0,11	0,13	0,13a	0,05b	0,33a	0,18b
C22:5n-3	0,33b	0,50a	0,38	0,49	0,19b	0,24a	0,49	0,58
C22:6n-3	0,20	0,22	0,24	0,21	0,12	0,12	0,37	0,28
Total SFAs	34,62	37,44	34,10	33,10	35,10	33,10	32,60	30,55
Total MUFAs	38,30	37,52	45,70	46,20	46,10	45,00	47,77	47,47
Total PUFAs	26,91	24,92	20,20	20,80	19,60b	22,50a	19,58	21,37
n-6	23,92a	15,17b	17,80a	13,10b	17,20a	14,00b	17,36a	14,07b
n-3	2,13b	9,24a	1,69b	6,93a	1,43b	7,80a	2,11b	7,16a
n-6/n-3	11,23a	1,64b	10,50a	1,91b	13,40a	2,00b	8,22a	1,96b

**Nota:** para un mejor análisis de la tabla, se han sombreado las diferencias significativas.

En primer lugar, puede observarse en la tabla que, desde el punto de vista cuantitativo, el contenido total de SFAs, MUFAs y PUFAs de los lotes control y los enriquecidos en aceite de linaza de todos los productos no mostraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), salvo el total de PUFAs del lomo curado aunque éstas fueron mínimas (19,60 g/100 g en el control frente a 22,50 en el lote enriquecido en PUFAs n-3). Realmente, este valor está rayando en el límite de las diferencias significativas. A tal efecto, obsérvese que el contenido total de PUFAs en los controles de lomo (*Longissimus dorsi*) y jamón (*Biceps femoris*) son prácticamente iguales (se diferencia el uno del otro en 20 mg) como cabría de esperar de dos piezas musculares magras con una función motora. En cuanto a las diferencias de PUFAs entre el control y el lote enriquecido en PUFAs n-3 fue de 2,9 g en el lomo mientras que en el jamón curado fue de 1,79 g, es decir, ambos productos se diferenciaron exactamente en 111 cg, suficiente para que estadísticamente el lote LE del jamón no mostrara diferencias significativas. Puede decirse, pues, que el contenido total de los diferentes tipos de ácidos grasos (SFAs, MUFAs y PUFAs) no cambia aunque la composición lipídica del pienso de unos cerdos y otros sea distinta. Asimismo, tampoco se observaron diferencias en las fracciones de SFAs y MUFAs entre los controles y los lotes LE. Además, considerados conjuntamente los cuatro productos, presentaron unos valores similares en una horquilla, los SFAs, de 30,55 (jamón LE) hasta 37,44 g / 100 g (solomillo control) y los MUFAs de 37,52 (solomillo control) hasta 47,77 g / 100 g (jamón LE). Es decir, son concentraciones de nivel parecido. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas ( $p < 0,005$ ) en los cuatro productos cárnicos en los PUFAs n-6 y n-3 entre los respectivos controles y las muestras enriquecidas en ALA. El modelo común fue una bajada en los PUFAs n-6 con el concomitante incremento de los PUFAs n-3. Estas bajadas se pueden calificar, sin cometer ningún desafuero, como espectaculares, dado que se hallaron porcentajes de descenso en los PUFAs n-6 del 37, 26, 19 y 19% en el solomillo, jamón cocido, lomo curado y jamón curado, respectivamente, mientras que los PUFAs n-3 aumentaron por factores de 4,3; 4,1; 5,5 y 3,4, respectivamente. De forma similar, la relación PUFAs n-6/n-3 se redujo entre 6 y 11 puntos debido, sin duda, al aumento



espectacular de los PUFAs n-3 aunque también colaboró en el descenso la bajada de los PUFAs n-6.

Un análisis detallado de cada par (muestra y control) de ácidos grasos en los que se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) permite señalar:

1) Solo en dos ocasiones (C16:1n-9 del solomillo fresco y C16:1n-7 del lomo curado) se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) aisladamente pero ambas fueron de escasa relevancia, en primer lugar por ser concentraciones muy bajas que poco pueden influir en el contexto total y, en segundo lugar, no afectaron a ácidos grasos de las familias n-6 o n-3. Similares consideraciones pero en sentido contrario, es decir sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), pueden hacerse respecto al C20:5n-3 en el jamón cocido, salvo que es de la familia n-3 pero su concentración es exigua, de 0,08 g /100 g tanto en el control como en la muestra enriquecida en PUFAs n-3.

2) Se observó un comportamiento distinto en el lomo curado frente a los otros productos en relación con los niveles de los ácidos grasos C20:4n-6, ya que en el primero se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) mientras que no se detectaron en los otros. Sin embargo, el C20:4n-3 mostró un comportamiento similar en el solomillo y el jamón cocido pero no se detectó en los productos curados. La ausencia de este último ácido graso puede atribuirse a una degradación oxidativa durante el proceso de maduración, ya que se observó tanto en los controles como en las muestras de los lotes LE. Además, no sólo no se detectó en estos dos lotes sino que fue una constante de todos los lotes preparados (L, LE, LO y LOE) y sus respectivos controles (no figuran en la tabla pero adviértase este hecho en los manuscritos Hoz y col., 2007; Santos y col., 2008). Los datos hallados no se pueden imputar al efecto directo de la dieta ya que el C20:4n-6 no figura en la misma (véase tabla 1 del manuscrito V). Por ello, los valores obtenidos en los productos cárnicos hay que considerarlos como resultado de la síntesis de este ácido graso por los animales a partir del ácido C18:2n-6, cuyas cantidades en los piensos eran realmente elevadas, más del 60% respecto a la grasa total en el control y que disminuyó hasta un valor aproximado del

25% al añadir el aceite de linaza (lotes L y LE) y de linaza y oliva (lotes LO y LOE).

3) El comportamiento del ácido C22:4n-6 fue similar al del C20:4n-6 en todo producto salvo en el jamón curado en lo referente a las diferencias significativas que se observaron en este último producto en el caso del C22:4n-6. Como no se detectó en el pienso, se pueden hacer consideraciones similares a las del apartado anterior. En cualquier caso, los ácidos grasos discutidos en los apartados anteriores son minoritarios (normalmente en concentraciones inferiores al 0,5 - 0,7% aunque en algún caso exceda a este porcentaje) y el pico del registro cromatográfico a partir del cual se calcula su porcentaje tiene un área muy pequeña y, obviamente, el resultado no es tan preciso como el de los ácidos grasos mayoritarios. Es, pues, ciertamente difícil explicar su comportamiento en un contexto químico/bioquímico donde hay procesos muy complejos, como las degradaciones bioquímicas y oxidativas que acaecen durante la maduración, así como la síntesis de nuevos compuestos.

4) Más fácil, ya que los resultados son casi irrefutables, es discutir el comportamiento de los ácidos grasos mayoritarios. Ya se han considerado agrupados los SFAs y MUFAs, sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), y los PUFAs en los que sí se observaron (en el lomo curado) diferencias significativas ( $p < 0,05$ ); poco queda por añadir individualmente respecto a los SFAs y MUFAs. Obsérvense en la tabla D.2. las concentraciones, por ejemplo, del C16:0 y C18:0 en cualquier producto y su respectivo control y se comprobará la similitud del valor hallado. Hágase igual para el MUFA mayoritario, el C18:1n-7, y se advertirá lo mismo. Respecto a los PUFAs mayoritarios (C18:2n-6 y C18:3n-3) se observa justamente el efecto que se planteó en la hipótesis de que al alimentar a monogástricos (en este caso el cerdo) con piensos enriquecidos en ALA se reflejaría en la composición en ácidos grasos de los tejidos del animal (en este caso el muscular, representado por el solomillo) y en los productos cárnicos fabricados con ellos (en este caso jamón cocido y lomo y jamón curados). Es justamente lo que sucedió. Se observa en la tabla un incremento del ALA con la concomitante disminución del LA. Por supuesto, las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se observaron en

todos los lotes. Pero como a partir de estos dos ácidos grasos el organismo sintetiza otros PUFAs de cadena más larga, también se produjo ese fenómeno que se hace patente en la tabla con rotundidad. Obsérvense todos los PUFAs de la familia n-3 (descartando el C18:2n-3 porque éste no deriva del ALA y los minoritarios que ya se han discutido) y fíjense en los que alcanzaron concentraciones mayores en el lote LE, el C18:3n-3, C20:5n-3 y C22:5n-3. Detallada y respectivamente en cada uno de los productos (solomillo, jamón cocido, lomo curado y jamón curado), el ALA (C18:3n-3) se multiplicó por factores de 5,91; 7,51; 7,71 y 6,36. El EPA (C20:5n-3) por 1,75; 1,0 (éste sin diferencias significativas), 4,57 y 2,85 y el C22:5n-3 por 1,51; 1,29 (sin diferencias significativas); 1,26 y 1,18 (sin diferencias significativas). Llama la atención que ningún producto mostrara diferencias significativas respecto a los controles en el contenido de DHA (C22:6n-3), uno de los ácidos grasos que repetidamente se ha observado que el organismo sintetiza por elongación y desaturación a partir del ALA.

El lote L, que comprende los productos que se obtuvieron de la carne de cerdos alimentados solo con piensos enriquecidos en aceite de linaza, mostró unos resultados que se pueden considerar similares a los recogidos en la tabla D.2. y discutidos en los párrafos anteriores (véanse los manuscritos Hoz y col., 2003, 2007 y Santos y col., 2004, 2008). Los productos incluidos en los lotes LO y LOE que proceden de cerdos a los que se administraron dietas enriquecidas con aceite de linaza y aceite de oliva y aceite de linaza, aceite de oliva y  $\alpha$ -tocoferol mostraron unos resultados en los que se reflejó claramente la presencia de aceite de linaza en el pienso el cual originó un enriquecimiento de los productos en PUFAs n-3 pero no se detectó efecto alguno del aceite de oliva porque en todos los lotes (controles y productos) se observaron concentraciones similares de ácido oleico, rondando el 40% (Hoz y col., 2003, 2007 y Santos y col., 2004, 2008). Esta concentración será la típica de los lípidos presentes en el tejido muscular de estos animales ya que, según se desprende de la tabla 1 del artículo Hoz y col. (2003), la concentración de oleico en el pienso control era aproximadamente la mitad que la de los lotes LO y LOE y del mismo orden que la de los piensos de los lotes L y LE. Es

posible que el organismo del animal acumule ácido oleico hasta alcanzar su concentración normal y/o la sintetice *de novo*.

En el apartado 2 de la Introducción se hace un análisis sobre la vitamina E, sus funciones fisiológicas y las estrategias para incrementar el contenido de vitamina E en los tejidos a través de la dieta. Asimismo, se estudian los fenómenos autooxidativos de los lípidos y el empleo de antioxidantes para minimizarlos. Aquí, se han resumido en la tabla D.3. los fenómenos oxidativos que se produjeron en los distintos productos elaborados. Aunque no son los resultados completos, son suficientes para apreciar las diferencias entre unos y otros lotes.

**Tabla D.3. Contenido en  $\alpha$ -tocoferol, sensibilidad a la oxidación (solomillo) y grado de oxidación (jamones y lomo) de diversos productos cárnicos**

Producto	Lote				
	C	L	LE	LO	LOE
<b>Solomillo fresco (<i>Psoas major</i>)</b>					
$\alpha$ -tocoferol (mg/kg de carne)	< 1b	< 1b	≈ 3a	< 1b	≈ 3a
TBARS (nmol malonaldehído/100 mg/prot/min)	≈ 0,25c	≈ 3,00a	≈ 0,50c	≈ 3,00a	≈ 1,00b
<b>Jamón cocido (varios músculos)</b>					
$\alpha$ -tocoferol (mg/kg de producto)	≈ 0,90b	≈ 0,90b	≈ 2,80a	≈ 0,90b	≈ 2,80a
TBARS (mg malonaldehído/kg de producto)	0,17	0,2	0,21	0,19	0,18
<b>Lomo curado (<i>Longissimus dorsi</i>)*</b>					
$\alpha$ -tocoferol (mg/kg de producto)	0,91c	0,71c	1,78a	1,11b	1,95a
TBARS (mg malonaldehído/kg de producto)-0	1,24b,β	2,97a,β	1,22b,β	1,35b,β	0,87c,β
TBARS (mg malonaldehído/kg de producto)-4	2,99b,α	4,18a,α	3,29b,α	3,16b,α	3,38b,α
<b>Jamón curado (<i>Biceps femoris</i>)</b>					
$\alpha$ -tocoferol (mg/kg de producto)	1,00c	0,88c	2,90a	2,10b	3,70a
TBARS (mg malonaldehído/kg de producto)	0,64b	1,96a	0,77b	1,26ab	0,78b

\* Los datos del lomo curado corresponden al final del periodo madurativo cero (0) y cuatro (4) meses después de almacenamiento a vacío

a,b,c indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en una fila y  $\alpha$  y  $\beta$  en una columna del lomo curado

El solomillo es carne fresca por lo que la aplicación del índice TBARS no tiene valor, ya que no habría diferencias entre los productos pues no daría tiempo a que se manifestara la oxidación lipídica a niveles mensurables. Por ello, el resultado se ofrece en relación con la sensibilidad de cada producto a ser oxidado, expresado en nmoles de malonaldehído / 100 mg proteína / min. En los otros productos, de vida útil larga, los resultados se expresan de acuerdo con el índice TBARS (mg malonaldehído / kg de producto).

Los resultados en su conjunto son obvios. Aquellos lotes procedentes de cerdos que se alimentaron con piensos enriquecidos con 200 mg de acetato de  $\alpha$ -tocoferol mostraron una menor

susceptibilidad a la oxidación en el caso del solomillo o una oxidación más baja cuando se trataba del producto cárnico. Es una excepción el jamón cocido ya que no se observaron diferencias ( $p > 0,05$ ) entre unos y otros lotes, mostrando un valor medio de TBARS de alrededor de 0,20 mg malonaldehído / kg de producto. De hecho, en el jamón cocido la autooxidación lipídica no puede avanzar porque el envasado es inmediato y se hace en condiciones anóxicas. Sí se manifestó, no obstante, la riqueza en  $\alpha$ -tocoferol de las muestras procedentes del solomillo cuando se aplicó el análisis de susceptibilidad a la oxidación inducida por el hierro. Valores de 0,25 nmoles de malonaldehído / 100 mg proteína / min del control se multiplicaron por un factor de 12 respecto a las muestras con la cantidad de  $\alpha$ -tocoferol natural (lotes L y LO), sin duda debido al enriquecimiento en el grado de insaturación de los ácidos grasos que conllevó una mayor susceptibilidad a la oxidación. Este efecto es similar al que se ha observado previamente en otros tejidos como el hepático y el muscular (D'Arrigo y col., 2002b, López-Bote y Rey, 2001) pero fue más acusado que en el tejido adiposo donde se ha detectado una menor sensibilidad a la oxidación (D'Arrigo y col., 2002a). Sin embargo, la susceptibilidad a la oxidación de las muestras procedentes de cerdos a los que se enriqueció el pienso con  $\alpha$ -tocoferol (LE y LOE) fue significativamente ( $p < 0,05$ ) menor que los anteriores pero más elevada que en el control, sobre todo en el lote LOE que también mostró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Las diferencias entre la respuesta de los lípidos de cada tejido frente a la oxidación inducida y el efecto amortiguador del  $\alpha$ -tocoferol están probablemente relacionados con la localización de la vitamina. Se localiza en las bicapas lipídicas de las membranas biológicas y desempeña, en parte, un papel estructural (Gurr y col., 2002c) pero su principal función es prevenir la oxidación de los lípidos insaturados presentes en las membranas que ha de mantenerse siempre bajo control para evitar los daños en la célula que pudieran ocasionar los fenómenos de oxidación (Gurr y col., 2002c). Quizás sea ésta la explicación de por qué la susceptibilidad a la oxidación es mayor en tejido adiposo (D'Arrigo y col., 2002a) que en los tejidos tanto hepático (D'Arrigo y col., 2002b) como muscular (Hoz y col., 2003), ya que se han ofrecido para la grasa adiposa, el tocino, valores de sensibilidad 6 y 16 veces superior (D'Arrigo y col.,

2002a). Naturalmente, este comportamiento deriva del porcentaje de grasa neutra y de fosfatidilglicerol. La primera se acumula en el citoplasma del adipocito y los segundos en las membranas y, en consecuencia, el tejido adiposo tendrá un porcentaje menor de fosfatidilglicerol, un 20-30% frente a un 90% (Wood y col., 2003).

En general, las muestras de lomo se oxidaron más rápidamente que las de jamón, lo que puede estar relacionado con el espesor del producto, menor en el caso de lomo, de tal manera que el oxígeno puede acceder con mayor facilidad a su interior. Un mismo efecto aunque de menor cuantía se ha observado en salchichones (Hoz y col., 2004) pero, en cualquier caso, llama la atención el ritmo de oxidación en un producto envasado a vacío donde el oxígeno residual no es mucho. Sin embargo, no es la primera vez que se detecta un fenómeno de esta naturaleza, ya que la mioglobina alcanza la máxima velocidad de oxidación cuando la concentración de oxígeno es del 2% y desciende tanto cuando disminuye la concentración como cuando se hace mayor, hasta llegar aproximadamente al 4-6% de oxígeno en la atmósfera. En este punto -e incluso a concentraciones superiores a las que de este gas hay en el aire- la velocidad de oxidación permanece constante (Ledward, 1970).

De forma particular, se observó que en los lomos envasados a vacío durante 4 meses (en la tabla D.3. señalados con el número 4), el lote L fue el que se diferenció de los demás en los índices TBARS, lo cual es totalmente congruente dado que era el enriquecido en ALA pero sin antioxidante.

Ante estos resultados, junto a otros obtenidos previamente con distintos productos (D'Arrigo y col, 2003; Hoz y col., 2003), se concluyó que se pueden fabricar jamón cocido y productos madurados (lomo y jamón) enriquecidos en ácidos grasos n-3 sin que se vea modificada de forma adversa ni la composición química, ni las características reológicas, ni las propiedades sensoriales de los mismos.

Estos productos reflejan las dos tecnologías más utilizadas en la fabricación de derivados cárnicos. La del jamón cocido conlleva un

tratamiento térmico y su envasado, generalmente, en un ambiente anóxico mientras que el lomo y el jamón son productos sometidos a maduración. Por tanto, los resultados obtenidos con estos dos modelos pueden extrapolarse a otros de tecnologías similares, sobre todo, en los aspectos relativos a la composición de ácidos grasos lo que permite generalizar que esta estrategia es válida para prácticamente la totalidad de derivados cárnicos.



## **2. ASPECTOS NUTRICIONALES DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS ENRIQUECIDOS EN PUFAs n-3**

Aunque los resultados de esta investigación se publicaron con fechas anteriores a la Opinión Científica emitida por la EFSA sobre los valores dietéticos de referencia para la grasa (EFSA, 2010), la discusión que se recoge en el presente apartado se hace de acuerdo con esta opinión científica, teniendo en cuenta los valores formulados por la EFSA sobre ingestas aceptables, es decir, la ingesta aceptable para el LA: 5% E, (equivalente a aprox. 17 g / día con una ingesta de 3.000 kcal). Ingesta aceptable para el ALA: 0,5% E (equivalente a aprox. 1,7 g / día con una ingesta de 3.000 kcal). Ingesta aceptable para EPA + DHA: 250 mg / día. No obstante, se menciona también con fines informativos la relación PUFAs n-6/n-3 sobre el descenso de este índice como consecuencia del enriquecimiento de los productos cárnicos en PUFAs n-3. Una discusión más amplia se encuentra en los manuscritos publicados antes de la opinión científica de la EFSA.

Una composición porcentual típica (g / 100 g de ácidos grasos) de los ácidos grasos de la porción muscular de la carne de cerdo es (Wood y col., 2008): C14:0, 1,3; C16:0, 23,2; C16:1n-7, 2,7; C18:0, 12,2; C18:1n-9, 32,8; C18:2n-6, 14,2; C18:3n-3, 0,95; C20:4n-6, 2,21; C20:5n-3, 0,31. Se considera que es una grasa de muy baja calidad nutritiva debido a 1) Las elevadas proporciones de ácidos grasos saturados (mirístico y palmítico) y los efectos que estos ácidos grasos tienen en los niveles de colesterol de la sangre que no se discutirá por caer fuera del objetivo de este trabajo. 2) La escasez de ácidos grasos esenciales (linoleico y linolénico). Asumiendo que la grasa proporciona el 35% de la energía total de una dieta normal de, por ejemplo, 3.000 kcal (12.552 kJ) el organismo, de acuerdo con la composición centesimal expresada más arriba, ingresaría, con una porción de 200 g de carne magra con un 5% de grasa, aproximadamente 1,42 g de LA (un 8,35% de lo fijado por la EFSA), 0,10 g de ALA (un 5,88% del umbral de referencia) y 30 mg de los PUFAs n-3 (en este caso el C20:5n-3), un 12% de lo especificado por la EFSA como EPA + DHA y 3) Aunque menos importante para definir la calidad de la dieta y, como se decía más arriba, solamente con fines comparativos, la relación de una porción muscular típica de cerdo mostrada al principio del párrafo es de 13, similar a los datos

aportados por otros autores como Rhee (1992) que indica que generalmente es superior a 10.

Las piezas de la canal de un cerdo no son tan magras como el solomillo, pues siempre van acompañadas de grasa intersticial en más o menos cuantía y, además, su composición en ácidos grasos varía dependiendo de la zona anatómica (véase apartado 1.7.1.3. de la Introducción). Ya se ha mencionado anteriormente el caso de la chuleta de la tabla D.1.a. Abundando en ello se señalará que una ración de 200 g de esa pieza aportaría 0,32 g de AGs n-3, alrededor de un 16% de lo especificado por la EFSA como ingesta aceptable y la suma de EPA + DHA sería de 80 mg, un 32% de la recomendación. Otra pieza, como el jamón Serrano e Ibérico (basándose en la composición del *Biceps femoris*), con una ración de 100 g suministraría en torno a 0,11 y 0,17 g de PUFAs n-3, también por debajo (un 5,6% y un 8,7%) de la recomendación de la EFSA. Igualmente ocurriría con el EPA + DHA que suministrarían como valor medio alrededor de 50 mg. Téngase en cuenta además que estos cálculos proceden de la composición del *Biceps femoris*, un músculo totalmente magro donde los PUFAs se localizan en las membranas de las células musculares y, por tanto, apenas contienen grasa adiposa. El consumo de una ración de jamón va acompañado también de grasa neutra que contiene una cantidad porcentual significativamente más baja de fosfolípidos.

Se puede argumentar que la composición en AGs de la carne de cerdo y sus productos no es constante; siempre puede sufrir desviaciones debido a diversas causas, como la edad, raza, sexo (véase apartado 1.7. de la Introducción) pero, sin lugar a dudas, la más importante es la alimentación, lo que claramente se observa en el caso del cerdo ibérico dependiendo de si su alimentación es mediante el sistema de montanera, recebo o pienso que influye tanto en la composición en ácidos grasos como en la calidad sensorial (Díaz y col., 1996a; Ruiz y Petró, 2001) hasta tal punto que la denominación de origen "Dehesa de Extremadura" exigía que un jamón de montanera tuviese un contenido máximo para unos ácidos grasos (C16:0, C18:0 y C18:2n-6) y mínimos para otros (C18:1n-9).

Así, en la campaña 2004-2005, el valor del C18:1n-9 debía estar comprendido entre 53,5 y 58% para que la denominación de origen certificara el jamón con la calificación de "montanera". Sobrepasado ese valor, el jamón se clasificaba como recebo (Ventanas y col., 2006). Pero ni siquiera los jamones y lomos procedentes de cerdos ibéricos en régimen de montanera que, como es sabido, se alimentan de hierbas, bellotas, frutos silvestres, etc. llegan a tener una calidad nutricional aceptable en relación con la composición en PUFAs n-3. Véase en la tabla D.4. los valores de los PUFAs en los lotes de "Dehesa de Extremadura", "Guijuelo" y "Jamón de Huelva" que fueron alimentados en régimen de montanera. El ALA alcanza concentraciones inferiores al 0,5% y, conjuntamente, todos los PUFAs n-3, no llegan al 1%. Asumiendo una ración de jamón curado de 100 g con un contenido de grasa medio de un 12% (tabla D.4.), la cantidad de PUFAs n-3 que ingresaría el organismo sería de unos 110 mg, muy por debajo (5,6%) de los 1,95 g de la ingesta aceptable fijada por la EFSA, ni siquiera cubriría recomendaciones más antiguas como la de 0,4 g de la BNF de 1994 (Gur y col. 2002). El mismo razonamiento para el lomo curado (ración de 100 g) rendiría un consumo de 36 mg y en el jamón cocido y solomillo fresco (raciones de 200 g) uno de 210 y 307 mg, respectivamente.

Ni siquiera se cubrirían las necesidades del también ácido graso esencial LA por el consumo de 100 g de jamón curado o 200 g de solomillo o jamón cocido, ya que la ingesta sería, de los 17 g aconsejados, alrededor del 6% en el jamón curado y del 21 y 12% en los otros productos.

En otros productos cárnicos recogidos en la tabla D.1.a., una porción de 200 g no cubriría la ingesta recomendada de PUFAs n-3 o de LA. Incluso los de mayor contenido en grasa tampoco satisfacerían la recomendación de LA, como es el caso de las salchichas de Francfort y del paté con porcentajes de grasa del 25,4 (Mataix, 2004) y del 39,72% (D'Arrigo y col., 2004), respectivamente. De acuerdo a estos autores, el contenido de LA (g / 100 g grasa) es de 10,5 y 12,9. Estos datos permiten calcular que con una ración de 200 g sólo se cubrirían el 31 y el 60% del LA recomendado por la EFSA. En cualquier caso,

las necesidades de LA están plenamente cubiertas en las dietas normales ya que hay muchos productos ricos en este ácido graso. Son muy buenas fuentes de LA una gran variedad de aceites vegetales. Por ejemplo, el de soja y algodón, con un 50%; el de girasol, con un 75% o el de colza con un 30%. Piénsese en la cantidad de frituras y formulaciones culinarias que emplean los aceites mencionados.

El pescado graso (sardina, salmón, arenque, caballa, trucha, etc.), con un contenido de grasa entre el 8 y el 19%, es el único producto natural de consumo cotidiano que ayuda a cubrir las necesidades del esencial ALA y permite ingerir una cantidad suficiente de EPA y DHA. Una ración de 200 g de pescado graso aportaría una cantidad de PUFAs n-3, tal que se tendrían satisfechas las necesidades de EPA y DHA. Además, no habría que esperar a la elongación y desaturación del ALA porque contribuiría con una buena porción de estos ácidos (además de que estaría cerca de cubrir las necesidades de ALA), en cantidades superiores a los 250 mg recomendados por la EFSA. La grasa del pescado magro (bacalao, merluza, gallo, etc.) es de la misma calidad que la del graso pero su contenido lipídico total es mucho menor (típicamente de algo menos del 1% hasta el 2%) Una ingesta mínima de algas (tabla D.1.a.) también podría contribuir bastante a satisfacer las necesidades de PUFAs n-3 pero este material no es de consumo frecuente aunque sí se ha usado para mejorar la calidad nutritiva de algunos productos cárnicos, como hamburguesas y salchichas (Lee y col., 2005; López-López y col., 2009a,b). Ante este panorama, no es de extrañar que algunas organizaciones, como la *British Nutrition Foundation* (BNF), recomienden actualmente, junto a los niveles de ingesta necesarios, el consumo de pescado para que la población opte en sus hábitos culinarios por integrar este alimento de forma regular (Lunn y Theobald, 2006).

El análisis de un estudio similar acerca de los aportes de PUFAs de los productos cárnicos preparados en los experimentos que dieron lugar a esta tesis permite advertir el impacto de la estrategia utilizada para enriquecer dichos productos en PUFAs n-3 (tabla D.4.). En esta tabla solo se muestran los PUFAs de los controles (en las

casillas de productos convencionales) y los productos enriquecidos en ALA correspondientes al lote LE. Asimismo, se han incluido los valores de estos ácidos grasos de los jamones de las denominaciones de origen (Fernández y col., 2007).

La concentración del LA fue menor en todas las muestras enriquecidas en ALA pero es una reducción concomitante con la subida del ALA, ya que los resultados están expresados en porcentajes de grasa total y son significativamente mayores en los controles de los cuatro productos cárnicos enriquecidos en ALA que en los correspondientes a los jamones donde la muestra con el mayor contenido en LA fue la del jamón Serrano. Estas diferencias pueden explicarse por la dieta de los cerdos controles que contenían extractos de soja y girasol (Hoz y col., 2003) cuyos porcentajes de LA son, respectivamente, de hasta el 60% y 70% (Hammond, 1992) sobre el total de ácidos grasos. No se conocen las dietas de los cerdos a partir de los cuales se fabricaron los jamones de las denominaciones de calidad porque estos se adquirieron en el mercado pero, probablemente, los cerdos del jamón Serrano consumieron un pienso que llevase soja u otra semilla oleaginosa, ya que es muy frecuente el uso de éstas como ingredientes. Quizás por ello, fue el jamón Serrano comercial el que contenía un mayor porcentaje de LA. Los ibéricos de las Denominaciones de Origen, pertenecían a la categoría de "bellota". Por tanto, cabe esperar que su alimentación fuese, además de bellotas, hierbas, frutos silvestres, anélidos, etc., lo que pudo determinar su composición en ácidos grasos en la que el LA alcanzó un valor entre el 5 y el 7%. Paralelamente a estos porcentajes, se observó un elevado nivel de ácido oleico que en los tres jamones ibéricos estuvo rayando el 50% (Fernández y col., 2007). En el caso del jamón de Teruel, los saturados C18:0 y C16:0 fueron los que compensaron el relativamente bajo porcentaje de LA.

Es evidente el aumento que se observó en el contenido de PUFAs n-3 de los productos cárnicos enriquecidos en ALA. Fue impresionante. Las concentraciones de ALA llegaron hasta el 5-7% del total de ácidos grasos cuando el valor medio del contenido en los productos cárnicos convencionales se situaba en torno al 0,9%.

Raciones (200 g en el solomillo y en el jamón cocido; 100 g en el lomo y en el jamón curado) de los productos enriquecidos, respecto a los controles, aumentaron enormemente las cantidades de ALA: en 6 veces en el solomillo (0,20 g frente a 1,16 g), en 7 veces en el jamón cocido (0,09 g frente a 0,66 g), en 7 veces en el lomo (0,02 g frente a 0,14 g) y en otras 7 veces en el jamón curado (0,06 g frente a 0,41 g). Realmente, si se comparan los valores de ALA de los productos cárnicos del lote LE con los de los pescados (tablas D.1.a. y D.1.b.), se observará que los productos cárnicos enriquecidos en PUFAs n-3 contienen valores de ALA similares a los del pescado graso y superiores a los del pescado blanco. Naturalmente, es el ALA el que sobresale cuantitativamente. Los demás proceden de la desaturación y elongación del ALA. En la tabla son muy obvias las mayores cantidades de los PUFAs de cadena larga presentes en el pescado, sobre todo las de EPA y DHA que a veces llegan hasta concentraciones superiores al 1% de grasa. Es posible que los PUFAs de cadena larga provengan directamente del alimento del medio marino donde habitan los peces.

A modo de comparación, obsérvese el descenso tan acusado que se ha producido en la relación PUFAs n-6/n-3. Desde índices de 10, y en algunos casos más, se ha llegado a valores máximos de 2, por debajo de las antiguas recomendaciones más exigentes (<4). Pero lo más llamativo es que la concentración del LA en los productos enriquecidos en PUFAs n-3 fue siempre menor que la de sus homólogos convencionales. La bajada se debe expresamente al aumento de la concentración de ALA. Esto parece confirmar la opinión de la EFSA de que el cociente PUFAs n-6/n-3 era algo artificioso derivado de datos ecológicos que sugerían que la ingesta de PUFAs n-6 había aumentado y la de n-3 disminuido en los últimos 150 años. Tal vez pueda decirse, pues, que el cambio en este último siglo y medio no ha ido acompañado de un abundante consumo de PUFAs n-6 y un escaso de PUFAs n-3, sino más bien lo que ha ocurrido es un descenso muy acusado de la ingesta de PUFAs n-3.

**Tabla D.4. Porcentaje de grasa y concentración de los principales ácidos grasos insaturados (g / 100g de grasa) en diversos productos cárnicos convencionales y sus homólogos enriquecidos en PUFAs n-3.**

Productos	% Grasa	Total n-3	LA	AA	ALA	EPA	DPA	DHA	n-6/n-3
<b>Convencionales</b>									
Solomillo C	≈7,7	2,13	22,70	0,90	1,27	0,04	0,33	0,20	11,23
Jamón cocido C	6,22	1,69	16,70	0,89	0,70	0,08	0,38	0,24	10,50
Lomo curado C	2,51	1,43	16,70	0,35	0,83	0,21	0,19	0,12	13,40
Jamón curado C <i>Biceps femoris</i>	7,92	2,11	15,11	1,36	0,78	0,47	0,49	0,37	8,22
Jamón Serrano	8,11	0,82	10,20	0,28	0,51	0,11	0,10	0,10	13,55
J. Dehesa Extremadura	17,23	0,64	5,43	0,17	0,40	0,10	0,06	0,08	9,36
J. Teruel	13,75	0,77	7,14	0,18	0,46	0,09	0,07	0,15	10,12
J. Guijuelo	12,98	0,66	6,13	0,19	0,35	0,16	0,06	0,09	10,35
J. Huelva	11,55	0,59	7,18	0,40	0,34	0,10	0,06	0,09	13,75
<b>Enriquecidos en ALA</b>									
Solomillo LE	≈7,7	9,24	14,50	0,49	7,50	0,07	0,50	0,22	1,64
Jamón cocido LE	6,29	6,93	12,40	0,54	5,26	0,08	0,49	0,21	1,91
Lomo curado LE	2,21	7,80	13,63	0,22	6,40	0,96	0,24	0,12	2,00
Jamón curado LE <i>Biceps femoris</i>	8,19	7,16	12,25	1,09	4,96	1,34	0,58	0,28	1,96





# CONCLUSIONES

“En ciencia, como en religión, la verdad resplandece como un faro mostrándose el camino, no pretendamos alcanzarla, es mucho mejor que se nos permita ir en su búsqueda”.

Arthur Stanley Eddington



1. La alimentación de cerdos con una dieta con un 3% de aceite de linaza o de linaza/oliva (50:50/v:v) permite el enriquecimiento de los lípidos del músculo *Psoas major* (solomillo) en el total de ácidos grasos insaturados de la familia n-3, especialmente en el  $\alpha$ -linolénico (C18:3n-3).
2. El contenido de vitamina E del músculo *Psoas major* (solomillo) se triplicó cuando los cerdos se alimentaron con dietas enriquecidas en acetato de  $\alpha$ -tocoferol (200 mg / kg pienso).
3. Se han podido fabricar productos cárnicos (jamón cocido, y lomo y jamón curados) con un porcentaje elevado de ácidos grasos insaturados de la familia n-3 a partir de la carne de los cerdos alimentados con los piensos enriquecidos con aceite de linaza.
4. Se considera que la calidad nutritiva de esos productos se ha mejorado ostensiblemente, pudiéndose decir que la concentración de ácido  $\alpha$ -linolénico, en general, se ha sextuplicado en solomillo, jamón cocido, y lomo y jamón curados en los lotes adicionados con linaza respecto a los controles. En los lotes enriquecidos con aceite de linaza y oliva también se ha obtenido un aumento considerable de dicho ácido graso.
5. Los piensos enriquecidos con aceite de linaza proporcionaron productos cárnicos con una mayor susceptibilidad a la oxidación (solomillo) o se aceleró la autooxidación lipídica (lomo y jamón curado), lo que podría ser un efecto negativo desde el punto de vista sensorial. Sin embargo, la oxidación se vio totalmente amortiguada por la adición del acetato de  $\alpha$ -tocoferol.



## **BIBLIOGRAFÍA**



- Ackman, R. G. (1980). Fish lipids. Parte 1. En "Advances in fish science and technology". J. J. Connell, págs. 86-103. Ed. Fishing News Books limited. Farnham. Surrey, Inglaterra.
- Ackman, R. G. (1994). Seafood lipids. En "Seafood: chemistry, processing, technology and quality." Shahidi, F. y Botta, R. J., págs. 34-45. Ed. Blackie A & P, Londres.
- Actis-Dato, S. M.; Catalá, A. and Brenner, R. R. (1973). Circadian rhythm of fatty acid desaturation in mouse liver, *Lipids* **8 (1)**, 1-6.
- Ahn, D. H.; Lutz, S. y Sim, J. S. (1996). Effects of dietary  $\alpha$ -linolenic acid on the fatty acid composition, storage stability and sensory characteristics of pork loin. *Meat Science* **43 (3-4)**, 291-299.
- AICE (Asociación de Industrias de la Carne de España) (2010). Censos y sacrificios. *Boletín electrónico sobre mercados elaborado por AICE* **48**, 7-8/11.
- Alessi, M.; Paul, T.; Scaiano, J. C. e Ingold, K. U. (2002). The contrasting kinetics of peroxidation of vitamin E-containing phospholipid unilamellar vesicles and human low-density lipoprotein. *Journal of the American Chemical Society* **124 (24)**, 6957-6965.
- Alino, M.; Grau, R.; Toldrá, F. y Barat, J. M. (2010). Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride. *Meat Science* **86 (2)**, 331-336.



- Allayee, H.; Roth, N. y Hodis H. N. (2009). Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease: implications for nutrigenetics. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics* **2** (3), 140-148.
- Allee, G. L.; Romsos, D. R.; Leveille, G. A. y Baker, D. H. (1972). Lipogenesis and enzymatic activity in pig adipose tissue as influenced by source of dietary fat. *Journal of Animal Science* **35**, 41-47.
- Anderson, B. A. (1988). Composition and nutritional value of edible meat by-products. En "Edible meat by-products. Advanced meat research", volumen 5. Pearson, A. M. y Dutson, T. R., pág. 5. Ed. Elsevier, Nueva York.
- Anderson, B. M. y Ma, D. W. L. (2009). Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? *Lipids in Health and Disease* **8**, 33-52.
- Andrés, A. I.; Cava, R.; Martín, D.; Ventanas, J. y Ruiz, J. (2005). Lipolysis in dry-cured ham: Influence of salt content and processing conditions. *Food Chemistry* **90** (4), 523-533.
- Andrés, A. I.; Cava, R.; Ventanas, J.; Muriel, E. y Ruiz, J. (2004). Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salt contents and processing conditions. *Food Chemistry* **84** (3), 375-381.
- Anholt, R. D.; Spanings, F. A. T.; Koven, W. M. y Bonga, S. E. W. (2004). Dietary supplementation with arachidonic acid in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) reveals physiological effects not mediated by prostaglandins. *General and Comparative Endocrinology* **139** (3), 215-226.

- Ansorena, D. y Astiasarán I. (2004b). Effect of storage and packaging on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. *Meat Science* **67** (2), 237-244.
- Ansorena, D. y Astiasarán I. (2004a). The use of linseed oil improves nutritional quality of the lipid fraction of dry-fermented sausages. *Food Chemistry* **87** (1), 69-74.
- Antequera, T.; García, C.; López, C.; Ventanas, J.; Asensio, M. A. y Córdoba, J. J. (1994). Evolución de distintos parámetros físicoquímicos durante la elaboración de jamones ibéricos a partir de cerdos Ibéricos (100%) e Ibéricos x Duroc (50%). *Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* **34** (2), 178-190.
- AOAC (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington D. C.: Association of Official Analytical Chemists.
- Apple, J. K.; Maxwell, C. V.; Sawyer, J. T.; Kutz, B. R.; Rakes, L. K.; Davis, M. E., Johnson, Z. B.; Carr, S. N. y Armstrong, T. A. (2007). Interactive effect of ractopamine and dietary fat source on quality characteristics of fresh pork bellies. *Journal of Animal Science* **85**, 2682-2690.
- Arnau, J. y Gou, P. (2001). Effect of air relative humidity on ham rind and subcutaneous salted fat during the resting period. *Meat Science* **58** (1), 65-68.
- Arnau, J.; Gou, P. y Comaposada, J. (2003). Effect of the relative humidity of drying air during the resting period on the composition and appearance of dry cured ham surface. *Meat Science* **65** (4), 1275-1280.

- Arnold, R. N.; Arp, S. C.; Scheller, K. K.; Williams, S. N. y Schaefer, D. M. (1993). Effects of supplementing cattle with vitamin E upon  $\alpha$ -tocopherol equilibration in tissues and incorporation into *longissimus* fractions and upon lipid and myoglobin oxidation in displayed beef. *Journal of Animal Science* **71**, 105-118.
- Attia-Skhiri, N.; Fournier, N.; Pourci, M. L. y Paul, J. L. (2009). Trans fatty acids: effects on lipoprotein metabolism and cardiovascular risk. *Annales de biologie clinique* **67** (5), 517-523.
- Ayerza, R.; Coates, W. y Lauria, M. (2002). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an omega-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance and sensory characteristics. *Poultry Science* **81** (6), 826-837.
- Bailey, M. E. y Robins, S. P. (1976). Current topics in the biosynthesis, structure and function of collagen. *Science Progress* **63** (251), 419-444.
- Bang, H. O. y Dyerberg J. (1972). Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west coast Eskimos. *Acta Medica Scandinavica* **192** (1-6), 85-94.
- Bang, H. O.; Dyerberg, J. y Hjoorne, N. (1976). The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Medica Scandinavica* **200** (1-6), 69-73.
- Barat, J. M.; Grau, R.; Ibáñez, J. B. y Fito, P. (2005). Post-salting studies in Spanish cured ham manufacturing. Time reduction by using brine thawing-salting. *Meat Science* **69** (2), 201-208.

- Barat, J. M.; Grau, R.; Pagán-Moreno, M. J. y Fito, P. (2004). Replacement of pile salting by simultaneous brine thawing-salting in Spanish cured ham manufacturing. *Meat Science* **66** (3), 603-608.
- Bareille, N. y Faverdin, P. (1996). Lipid metabolism and intake behavior of dairy cows: effects of intravenous lipid and beta-adrenergic supplementation. *Journal of Dairy Science* **79** (7), 1209-1220.
- Barre, D. E. (2007). The role of consumption of alpha-linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in human metabolic syndrome and type 2 diabetes--a mini-review. *Journal of Oleo Science* **56** (7), 319-325.
- Barreiro, D. (2010a). Informe económico de la industria cárnica y alimentaria. *Eurocarne* **188**, 38-44.
- Barreiro, D. (2010b). Las carnes y productos cárnicos de calidad: un modelo en auge. *Eurocarne* **189**, 99-104.
- Bassett, C. M.; Rodriguez-Leyva, D. y Pierce, G. N. (2009). Experimental and clinical research findings on the cardiovascular benefits of consuming flaxseed. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism* **34**, 965-974.
- Battino, M.; Quiles, J.; Huertas, J. R.; Ramírez-Tortosa, M. C.; Casinillo, M.; Mañas, M.; López-Frías, M. y Mataix, J. (2002). Feeding fried oil changes antioxidant and fatty acid pattern of rat and affects rat liver mitochondrial respiratory chain components. *Journal of Bioenergetics and Membranes* **34** (2), 127-134.

- Beckova, R. y Vaclavkova, E. (2010). The effect of linseed diet on carcass value traits and fatty acid composition in muscle and fat tissue of fattening pigs. *Czech Journal of Animal Science* **55 (8)**, 313-320.
- Bee, G.; Gebert, S. y Messikommer, R. (2002). Effect of dietary energy supply and fat source on the fatty acid pattern of adipose and lean tissues and lipogenesis in the pig. *Journal of Animal Science* **80**, 1564-1574.
- Bello-Gutiérrez, J. (2008b). Jamón curado. Aspectos científicos y tecnológicos. Perspectiva desde la Unión Europea, págs. 291-316. Ed. Díaz de Santos, Madrid.
- Bello-Gutiérrez, J. (2008a). Jamón curado. Aspectos científicos y tecnológicos. Perspectiva desde la Unión Europea, págs. 321-329. Ed. Díaz de Santos, Madrid.
- Berberich, T.; Harada, M.; Sugawara, K.; Kodama, H.; Iba, K. y Kusano, T. (1998). Two maize genes encoding omega-3 fatty acid desaturase and their differential expression to temperature. *Plant Molecular Biology* **36 (2)**, 297-306.
- Bernardini, R.; Harnedy, P.; Bolton, D.; Kerry, J.; O'Neill, E.; Mullen, A. M. y Hayes, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chemistry* **124 (4)**, 1296-1307.
- Bilek, A. E. y Turhan, S. (2009). Enhancement of the nutritional status of beef patties by adding flaxseed flour. *Meat Science* **82 (4)**, 472-477.

- Bilenko, N.; Fraser, D.; Vardi, H.; Shai, I. y Sharar, D. R. (2005). Mediterranean diet and cardiovascular diseases in an Israeli population. *Preventive Medicine* **40** (3), 299-305.
- Blanchard, P. J.; Ellis, M.; Warkup, C. C.; Chadwick, J. P. y Willis, M. B. (1999). The influence of sex (boars and gilts) on growth, carcass and pork eating quality characteristics. *Animal Science* **68**, 487-493.
- Blanco, A.; Artacho-Pérula, E.; Flores-Acuña, R.; Agüera, E. y Monterde, J. G. (2002). Quantitative modification of the testicular structure in pigs fed with anabolic doses of clenbuterol. *Veterinary Research* **33** (1), 47-53.
- Bligh, E. G. y Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37** (8), 911-917.
- Bloedon, L. T.; Balikai, S.; Chittams, J.; Cunnane, S. C.; Berlin, J. A.; Rader, D. J. y Szapary, P. O. (2008). Flaxseed and cardiovascular risk factors: results from a double blind, randomized, controlled clinical trial. *Journal of the American College of Nutrition* **27** (1), 65-74.
- Bloor, W. R. (1920). Outline of a classification of the lipids. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **17**, 138-140.
- Bloor, W. R. (1943). Biochemistry of the fatty acids and their compounds, the lipids, pág. 1. Ed. Reinhold Publishing Corporation, Nueva York.
- Bonneau, M. (1998). Use of entire male pigs in the European Union. *Meat Science* **49** (Suppl. 1), S257-S252.

- Börgstrom, B. (1974). Fat digestion and absorption. En "Biomembranes". Smyth, D. H., págs. 555-620. Ed. Plenum Press, Nueva York.
- Borowska, E. J.; Szajdek, A. y Borowski, J. (2005). Antioxidant properties of fruits, vegetables and their products. *Fruit Process* **Jan./Feb.**, 38-43.
- Bosco, A.; Castellini, C.; Bianchi, L. y Mugnai, C. (2004). Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E on the fatty acid composition, storage and sensory traits of rabbit meat. *Meat Science* **66 (2)**, 407-413.
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology* **32**, 62-66.
- Brenner, R. R. (1971). The desaturation step in the animal biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *Lipids* **6 (8)**, 567-575.
- British Nutrition Foundation. (1992). Unsaturated fatty acids: Nutritional and physiological significance. The report of the British Nutrition Foundation's Task Force. Chapman and Hall, Londres.
- Bruna, J.; Fernández, M.; Ordóñez, J. A. y Hoz, L. (2002). Enhancement of the flavor development of dry fermented sausages by using a protease (Pronase E) and a cell-free extract of *Penicillium camemberti*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **82**, 526-533.
- Burdge, G. C. (2004). Alpha-linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **7 (2)**, 137-144.
- Cáceres, E.; García, M. L. y Selgas, M. D. (2008). Effect of pre-emulsified fish oil -as source of PUFA n-3- on microstructure and sensory properties of mortadella, a Spanish bologna-type sausage. *Meat Science* **80 (2)**, 183-193.

- Calder, P. C. (1997). n-3 Polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. *Annals of Nutrition and Metabolism* **41** (4), 203-234.
- Calligaris, S.; Manzocco, L.; Conte, L. S. y Nicoli, M. C. (2004). Application of a modified Arrhenius equation for the evaluation of oxidation rate of sunflower oil at subzero temperatures. *Journal of Food Science* **69** (8), E361-E366.
- Cameron, N. D.; Enser, M.; Nute, G. R.; Whittington, F. M.; Penman, J. C.; Fisker, A. C.; Perry, A. M. y Wood, J. D. (2000). Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat. *Meat Science* **55** (2), 187-195.
- Careri, M.; Mangia, A.; Barbieri, G.; Bouoni, L.; Virgili, R. y Parolari, G. (1993). Sensory property relationship to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *Journal of Food Science* **58** (5), 968-972.
- Castell, A. G.; Cliplef, R. L.; Poste-Flynn, L. M. y Butler, G. (1994). Performance, carcass and pork characteristics of castrates and gilts self-fed diets differing in protein content and lysine:energy ratio. *Canadian Journal of Animal Science* **74**, 519-528.
- Castro, I.; Tirapegui, J.; Silva, R. S. S. F. y Cutrim, A. J. S. (2004). Sensory evaluation of a milk formulation supplemented with n-3 polyunsaturated fatty acids and soluble fibres. *Food Chemistry* **85** (4), 503-512.
- Cava, R.; Ferrer, J. M.; Estévez, M.; Morcuende, D. y Toldrá, F. (2004). Composition and proteolytic and lipolytic enzyme activities in muscle *Longissimus dorsi* from Iberian pigs and industrial genotype pigs. *Food Chemistry* **88** (1), 25-33.



- Chaijan, M.; Benjakul, S.; Visessanguan, W. y Faustman, C. (2006). Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chemistry* **99** (1), 83-91.
- Chan, J. K.; McDonald, B. E.; Gerrard, J. M.; Bruce, V. M.; Weaver, B. J. y Holub, B. J. (1993). Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and its ratio to linoleic acid on platelet and plasma fatty acids and thrombogenesis. *Lipids* **28** (9), 811-817.
- Chan, W. K. M.; Hakkarainen, K.; Faustman, C.; Schaefer, D. M.; Scheller, K. K. y Liu, Q. (1996). Dietary vitamin E effect on color stability and sensory assessment of spoilage in three beef muscles. *Meat Science* **42** (4), 387-399.
- Chauhan, A.; Chauhan, V.; Brown, W. T. y Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin – the antioxidant proteins. *Life Science* **75** (21), 2539-2549.
- Cherian, G. y Sim, J. S. (1995). Dietary  $\alpha$ -linolenic alters the fatty acid composition of lipid classes in swine tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43** (11), 2911-2916.
- Chiralt, A.; Fito, P.; Barat, J. M.; Andrés, A.; González Martínez, C.; Escriche, I. y Camacho, M. M. (2001). Use of vacuum impregnation in food salting process. *Journal of Food Engineering* **49** (2-3), 141-151.
- Choi, N. J.; Enser, M.; Wood, J. D. y Scollan, N. D. (2000). Effect of breed on the deposition in beef muscle and adipose tissue of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. *Animal Science* **71** (3), 509-519.

Christie, W. W. (2003). Lipid analysis, pág. 1. Ed. Pergamon Press, Nueva York.

CIAA (2009). Data & trends of the European Food and Drink Industry. Disponible en:

<http://www.ciaa.be/documents/brochures/ciaa-data%20trend-updated.pdf>

Cisneros, F.; Ellis, M.; Baker, D. H.; Easter, R. A. y McKeith, F. K. (1996). The influence of short-term feeding of amino-acid deficient diets and high dietary leucine levels on the intramuscular fat content of pig muscle. *Animal Science* **63**, 517-522.

Cleland, L. G.; James, M. J.; Neumann, M. A.; D'Angelo, M. y Gibson, R. A. (1992). Linoleate inhibits EPA incorporation from dietary fish-oil supplements in human subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* **55**, 395-399.

Cofrades, S.; López-López, I.; Bravo, L.; Ruiz-Capillas, C.; Bastida, S.; Larrea, M. T. y Jiménez-Colmenero, F. (2010). Nutritional and antioxidant properties of different brown and red spanish edible seaweeds. *Food Science and Technology International* **16 (5)**, 361-370.

Comaposada, J.; Gou, P. y Arnau, J. (2000). The effect of sodium chloride content and temperature on pork meat isotherms. *Meat Science* **55 (3)**, 291-295.

CONFECARNE (2010). El sector cárnico español. Producción, mercado, consumo, comercio exterior. Datos suministrados por CONFECARNE.

Corino, C.; Magni, S.; Pastorelli, G.; Rossi, R. y Mourot, J. (2003). Effect of conjugated linoleic acid on meat quality, lipid metabolism and sensory

characteristics of dry cured ham from heavy pigs. *Journal of Animal Science* **81**, 2219-2229.

Correa, J. A.; Faucitano, L.; Laforest, J. P.; Rivest, J.; Marcoux, M. y Gariépy, C. (2006). Effects of slaughter weight on carcass composition and meat quality in pigs of two different growth rates. *Meat Science* **72** (1), 91-99.

Costa-Corredor, A.; Serra, X.; Arnau, J. y Gou, P. (2009). Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters. *Meat Science* **83** (3), 390-397.

Costa, N.; McGillivray, C.; Bay, Q.; Wood, J. D.; Evans, G. y Chang, K-C. (2004). Restriction of dietary energy and protein induces molecular changes in young porcine skeletal muscles. *The Journal of Nutrition* **134** (9), 2191-2199.

Coutron-Gambotti, C.; Gandemer, G.; Rousset, S.; Maestrini, O. y Casabianca, F. (1999). Reducing salt content of dry cured ham: Effect on lipid composition and sensory attributes. *Food Chemistry* **64** (1), 13-19.

Craig-Schmidt, M. C. (1992). Fatty acids isomers in foods. En "Fatty acids in foods and their health implications." Chow, C. K., págs. 363-398. Ed. Marcel Dekker Inc., Nueva York.

Crespo, N. y Esteve-García, E. (2001). Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. *Poultry Science* **80** (1), 71-78.

- Crespo, N. y Esteve-García, E. (2002). Dietary polyunsaturated fatty acids decrease fat deposition in separable fat depots but not in the remainder carcass. *Poultry Science* **81** (4), 512-518.
- Cruz, J. (2010). El crecimiento del consumo y las exportaciones hacen augurar cierta recuperación del sector jamonero. *Eurocarne* **189**, 41-50.
- Cunnane, S. C.; Stitt, P. A.; Ganguli, S. y Armstrong, J. K. (1990). Raised omega-3 fatty acid levels in pigs fed flax. *Canadian Journal of Animal Science* **70**, 251-254.
- Daligault, F.; Reed, D. W.; Savile, C. K.; Nugier-Chauvin, C.; Patin, H.; Covello, P. S. y Buist, P. H. (2003) Mechanistic characterization of  $\omega$ -3 desaturation in the green alga *Chlorella vulgaris*. *Phytochemistry* **63** (7), 739-744.
- D'Arrigo, M.; Hoz, L.; Cambero, I.; López-Bote, C. J.; Pin, C. y Ordóñez, J. A. (2004). Production of n-3 fatty acid enriched pork liver paté. *Food Science and Technology* **37** (6), 585-591.
- D'Arrigo, M.; Hoz, L.; López-Bote, C. J.; Cambero, I.; Pin, C. y Ordóñez, J. A. (2002b). Effect of dietary linseed oil on pig hepatic tissue fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation. *Nutrition Research* **22** (10), 1189-1196.
- D'Arrigo, M.; Hoz, L.; López-Bote, C. J.; Cambero, I.; Pin, C.; Rey, A. I. y Ordóñez, J. A. (2002a). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on selected properties of pig fat. *Canadian Journal of Animal Science* **82**, 339-347.

- D'Arrigo, M. (2003). Obtención de carne de cerdo y elaboración de productos (paté y salchichón) enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados n-3. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.
- Das Gupta, A. B.; Hossain, A. K.; Islam, M. H.; Dey, S. R. y Khan, A. L. (2009). Role of omega-3 fatty acid supplementation with indomethacin in suppression of disease activity in rheumatoid arthritis. *Bangladesh Medical Research Council* **35**, 63-68.
- Decker, E. A. y Hultin, H. O. (1992). Lipid oxidation in muscle foods via redox iron. En "Lipid oxidation in food". St. Angelo, A. J., págs. 33-54. Ed. Symposium Series 500, American Chemical Society, Washington D. C.
- De Luis, D. A.; Conde, R.; Aller, R.; Izaola, O.; González-Sagrado, M.; Perez-Castrillón, J. L.; Dueñas, A. y Romero E. (2009). Effect of omega-3 fatty acids on cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes *mellitus* and hypertriglyceridemia: an open study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* **13 (1)**, 51-55.
- DeMan, J. N. (1992). Chemical and physical properties of fatty acids. En "Fatty acids in foods and their health implications". Chow, C. K., págs. 17-45. Ed. Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Dhaka, V.; Gulia, N.; Ahlawat, K. S. y Khatkar, B. S. (2011). Trans fat-sources, health risks and alternative approach – A review. *Journal of Food Science and Technology – Mysore* **48 (5)**, 534-541.
- Díaz, I.; García-Regueiro, J. A.; Casillas, M. y De Pedro, E. (1996a). Triglyceride composition of fresh ham fat from Iberian pigs produced with different systems of animal nutrition. *Food Chemistry* **55 (4)**, 383-387.

Diccionario RAE 22ª Edición. Disponible en:

<http://buscon.rae.es/draeI/>

Dickerson, G. E. y Teague, H. S. (1987). Energy intake restriction and lean growth efficiency in swine. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **104 (1-5)**, 82-95.

D'Souza, D. N.; Pethick, D. W.; Dunshea, F. R.; Suster, D.; Pluske, J. R. y Mullan, B. P. (2004). The pattern of fat and lean muscle tissue deposition differs in the different pork primal cuts of female pigs during the finisher growth fase. *Livestock Production Science* **91 (1-2)**, 1-8.

Duffy, E. M.; Meenagh, G. K.; McMillan, S. A.; Strain, J. J.; Hannigan, B. M. y Bell, A. L. (2004). The clinical effect of dietary supplementation with omega-3 fish oils and/or copper in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology* **31 (8)**, 1551-1556.

Eaton, S. B.; Eaton, S. B. I. y Shostak, M. (1996). An evolutionary perspective enhances understanding of human nutritional requirements. *Journal of Nutrition* **126 (6)**, 1732-1740.

EFSA (European Food Safety Authority). 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. Question number EFSA-Q-2008-466. Disponible en:

<http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1461.htm>

Egert, S.; Kannenberg, F.; Somoza, V.; Erbersdobler, H. F. y Wahrburg, U. (2009). Dietary alpha-linolenic acid, EPA, and DHA have differential effects on LDL fatty acid composition but similar effects on serum lipid

profiles in normolipidemic humans. *The Journal of Nutrition* **139** (5), 861-868.

Eggert, J. M.; Grant, A. L. y Schinckel, A. P. (2007). Factors affecting fat distribution in pork carcasses. *Professional Animal Scientist* **23** (1), 42-53.

Ellis, N. R. e Isbell, H. S. (1926a). Soft pork studies. I. The influence of the character of the ration upon the composition of the body fat of hogs. *The Journal of Biological Chemistry*, **69**, 219-238.

Ellis, N. R. e Isbell, H. S. (1926b). Soft pork studies. II. The effect of food fat upon body fat, as shown by the separation of the individual fatty acids of the body fat. *The Journal of Biological Chemistry*, **69**, 239-248.

Enig, M. G.; Pallansch, L. A.; Sampugna, J. y Keeney, M. (1983). Fatty acids composition of the fat of selected food items with emphasis on trans components. *Journal of the American Oil Chemist's Society* **60** (10), 1788-1795.

Enser, M.; Hallett, K.; Hewett, B.; Fursey, G. A. J. y Wood, J. D. (1996). Fatty acid content and composition of English beef lamb and pork at retail. *Meat Science* **42** (4), 443-456.

Enser, M.; Richardson, R. I.; Wood, J. D.; Gill, B. P. y Sheard, P. R. (2000). Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages. *Meat Science* **55** (2), 201-212.

Erkkilä, A. T.; Schwab, U. S.; de Mello, V. D.; Lappalainen, T.; Mussalo, H.; Lehto, S.; Kemi, V.; Lamberg-Allardt, C. y Uusitupa, M. I. (2008). Effects of fatty and lean fish intake on blood pressure in subjects with

coronary heart disease using multiple medications. *European Journal of Nutrition* **47** (6), 319-328.

FAO (Food and Agriculture Organization) (1994). Fats and oils in human nutrition: Report of a joint expert consultation (J. L. Albert.). FAO Food and Nutrition Paper Nº 57.

Farzaneh-Far, R.; Harris, W. S.; Garg, S.; Na, B. y Whooley, M. A. (2008). Inverse association of erythrocyte n-3 fatty acid levels with inflammatory biomarkers in patients with stable coronary artery disease: The Heart and Soul Study. *Atherosclerosis* **205** (2), 538-543.

Fernández, M.; Ordóñez, J. A.; Cambero, I.; Santos, C.; Pin, C. y Hoz, L. (2007). Fatty acid composition of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chemistry* **101** (1), 107-112.

Fetterman Jr., J. y Zdanowicz, M. (2009). Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. *American Journal of Health-System Pharmacy* **66** (13), 1169-1179.

Fisher, A. V.; Green, D. M.; Whittemore, C. T.; Wood, J. D. y Schofield, C. P. (2003). Growth of carcass components and its relation with conformation in pigs of three types. *Meat Science* **65** (1), 639-650.

Freese, R.; Mutanen, M.; Valsta, L. M. y Salminen, I. (1994). Comparison of the effects of two diets rich in monounsaturated fatty acids differing in their linoleic/alpha-linolenic acid ratio on platelet aggregation. *Thrombosis and Haemostasis* **71** (1), 73-77.



- Friedman, H. I. y Nylund, P. (1980). Intestinal fat digestion, absorption and transport. A review. *The American Journal of Clinical Nutrition* **33** (5), 1108-1139.
- Fujimoto, K.; Kimoto, H.; Shishikura, M.; Endo, Y. y Ogimoto, K. (1993). Biohydrogenation of linoleic acid by anaerobic bacteria isolated from rumen. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **57**, 1026-1027.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science* **62** (3), 309-321.
- Gandemer, G. (2009). Dry-cured ham quality as related to lipid quality of raw material and lipid changes during processing: a review. *Grasas y aceites* **60** (3), 297-307.
- García, C.; Berdagué, J. J.; Antequera, T.; López-Bote, C.; Córdoba, J. J. y Ventanas, J. (1991). Volatile components of dry cured Iberian ham. *Food Chemistry* **41** (1), 23-32.
- García-Garrido, J. A.; Quiles-Zafra, R.; Tapiador, J. y Luque de Castro, M. D. (1999). Sensory and analytical properties of Spanish dry cured ham of normal and defective texture. *Food Chemistry* **67** (4), 423-427.
- Gázquez-Ortíz, A. (2001). El jamón en la gastronomía española. Apuntes para la Historia. *Qazris* **18**, 53-58.
- Ge, Y.; Wang, X.; Chen, Z.; Landman, N.; Lo, E. H. y Kang, J. X. (2002). Gene transfer of the *Caenorhabditis elegans* n-3 fatty acid desaturase inhibits neuronal apoptosis. *Journal of Neurochemistry* **82** (6), 1360-1366.

- Gil, A. (2002). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **56** (8), 388-396.
- Giles, L. R.; Eamens, G. L.; Arthur, P. F.; Barchia, I. M.; James, K. J. y Taylor, R. D. (2009). Differential growth and development of pigs as assessed by X-ray computed tomography. *Journal of Animal Science* **87**, 1648-1658.
- Gil, M.; Guerrero, L. y Sárraga, C. (1999). The effect of meat quality, salt and ageing time on biochemical parameters of dry-cured *Longissimus dorsi* muscle. *Meat Science* **51** (4), 329-337.
- Gispert, M.; Font i Furnols, M.; Gil, M.; Velarde, A.; Diestre, A.; Carrión, D.; Sosnicki, A. A. y Plastow, G. S. (2007). Relationships between carcass quality parameters and genetic types. *Meat Science* **77** (3), 397-404.
- Gojmerac, T.; Mandic, B.; Lojkic, M. y Bilandzic, N. (2000). Acute and subacute metabolic and endocrine effects of clenbuterol in female pigs. *Veterinary Research Communications* **24** (3), 179-187.
- Gómez, A.; Campos, V.; Desamparados, M. y Fregapane, G. (2004). Oxidation kinetics in olive triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25-75°C). *European Journal of Lipid Science and Technology* **106**, 369-375.
- Gou, P.; Comaposada, J. y Arnau, J. (2003). NaCl content and temperature effects on moisture diffusivity in the *Gluteus medius* muscle of pork ham. *Meat Science* **63** (1), 29-34.

- Gou, P.; Comaposada, J. y Arnau, J. (2004). Moisture diffusivity in the lean tissue of dry-cured ham at different process times. *Meat Science* **67** (2), 203-209.
- Goyens P. L. y Mensink R. P. (2005). The dietary alpha-linolenic acid to linoleic acid ratio does not affect the serum lipoprotein profile in humans. *The Journal of Nutrition* **135** (12), 2799-2804.
- Grønn, M.; Gørbitz, C.; Christensen, E.; Levorsen, A.; Ose, L.; Hagve, T. A. y Christophersen, B. O. (1991). Dietary n-6 fatty acids inhibit the incorporation of dietary n-3 fatty acids in thrombocyte and serum phospholipids in humans. A controlled dietetic study. *Scandinavian Journal Clinical Laboratory and Investigation* **51** (3), 225-263.
- Gruenwald, J.; Graubaum, H-J; Hansen, K. y Grube, B. (2004). Efficacy and tolerability of a combination of Lyprinol® and high concentrations of EPA and DHA in inflammatory rheumatoid disorders. *Advances in Therapy* **21** (3), 197-201.
- Guerrero, L.; Gou, P. y Arnau, J. (1999). Influence of meat pH on mechanical and sensory textural properties of dry-cured ham. *Meat Science* **52** (3), 267-273.
- Gunnarsdottir, I.; Tomasson, H.; Kiely, M.; Martínéz, J. A.; Bandarra, N. M.; Morais, M. G y Thorsdottir, I. (2008). Inclusion of fish or fish oil in weight-loss diets for young adults: effects on blood lipids. *International Journal of Obesity* **32** (7), 1105-1112.
- Gurr, M. I.; Harwood, J. L. y Frayn, K. N. (2002b). Cutin, suberin and waxes – the surface covering of plants. En “Lipid biochemistry. An introduction”. Gurr, M. I.; Harwood, J. L. y Frayn, K. N., págs. 254-255. Ed. Blackwell Science, Oxford.

- Gurr, M. I.; Harwood, J. L. y Frayn, K. N. (2002a). Lipids supply components of organs and tissues for membrane synthesis and other functions. En "Lipid biochemistry. An introduction". Gurr, M. I.; Harwood, J. L. y Frayn, K. N., págs. 135-140. Ed. Blackwell Science, Oxford.
- Gurr, M. I.; Harwood, J. L. y Frayn, K. N. (2002c). Vitamin E. En "Lipid biochemistry. An introduction". Gurr, M. I.; Harwood, J. L. y Frayn, K. N., págs. 156-158. Ed. Blackwell Science, Oxford.
- Hagemeister, H.; Precht, D.; Franzen, M. y Barth, C. A. (1992).  $\alpha$ -Linolenic acid transfer into milk fat and its elongation by cows. *Fett Wissenschaft Technologie* **93 (10)**, 387-391.
- Hamilton, R. J. (1994). The chemistry of rancidity in foods. En "Rancidity in foods". Allen, J. C. y Hamilton, R. J., págs. 1-21. Ed. Chapman & Hall, Nueva York.
- Hammond, E. G. (1992). Genetic alteration of food fats and oils. En "Fatty acids in foods and their health implications." Chow, C. K., págs. 313-327. Ed. Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Hanson, S. W. F. y Olley, J. (1963). Application of the Bligh and Dyer method of lipid extraction to tissue homogenates. *Biochemical Journal* **89**, 101P-102P.
- Harper, C. R.; Edwards, M. C. y Jacobson, T. A. (2006). Flaxseed oil supplementation does not affect plasma lipoprotein concentration or particle size in human subjects. *The Journal of Nutrition* **136 (11)**, 2844-2848.

- Hauser, N.; Mourot, J.; De Clercq, L.; Genart, C. y Remacle, C. (1997). The cellularity of developing adipose tissues in Pietrain and Meishan pigs. *Reproduction Nutrition Development* **37 (6)**, 617-625.
- Hays, V. W. y Preston, R. L. (1994). Nutrition and feeding management to alter carcass composition of pigs cattle. En "Low-fat meats. Design strategies and human implications." Hafs, H. D. y Zimbelman, R. G., págs. 13-34. Ed. Academic Press. San Diego.
- He, K. (2009). Fish, long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and prevention of cardiovascular disease – eat fish or take fish oil supplement? *Progress in Cardiovascular Diseases* **52 (2)**, 95-114.
- Herranz, B.; Ordóñez, J. A.; Hoz, L.; Hierro, E.; Soto, E. y Cambero, M. I. (2008). Fatty acid composition of salami from different countries and their nutritional implications. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **59 (7-8)**, 607-618.
- Hisada, T.; Ishizuka, T.; Aoki, H. y Mori, M. (2009). Resolvin E1 as a novel agent for the treatment of asthma. *Expert Opinion on Therapeutics Targets* **13 (5)**, 513-522.
- Hoffman, A. F. y Small, D. S. (1967). Detergent properties of bile salts: correlation with physiological function. *Annual Review of Medicine* **18**, 333-376.
- Hoflund, S.; Holmberg, J. y Sellmann, G. (1956). Investigations on fat digestion and fat metabolism in ruminants. II. Feeding unsaturated fats to dairy calves. *Cornell Veterinary Medicine* **46 (1)**, 51-53.

- Holub B. J. (2009). Docosahexaenoic acid (DHA) and cardiovascular disease risk factors. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **81** (2-3), 199-204.
- Hoz, L.; Cambero, I.; Santos, C.; Herranz, B. y Ordóñez, J. A. (2007). Fatty acids and sensory characteristics of Spanish dry-cured loin enriched in acid  $\alpha$ -linolenic and  $\alpha$ -tocopherol. *Food Chemistry* **101** (4), 1701-1706.
- Hoz, L.; D'Arrigo, M.; Cambero, I. y Ordóñez, J. A. (2004). Development of an n-3 fatty acid and  $\alpha$ -tocopherol enriched dry fermented sausage. *Meat Science* **67** (3), 485-495.
- Hoz, L.; López-Bote, C. J.; Cambero, M. I.; D'Arrigo, M.; Pin, C.; Santos, C. y Ordóñez, J. A. (2003). Effect of dietary linseed oil and  $\alpha$ -tocopherol on pork tenderloin (*Psoas major*) muscle. *Meat Science* **65** (3), 1039-1044.
- Hsiang, Y. W.; Rung, J. T. y Suey, P. C. (2002). The effects of the qualities of dry-cured loin ham treated by different salt content and drying or smoking. *Journal of the Chinese Society of Animal Science* **31**, 55-66.
- Hulot, F.; Ouhayoun, J. y Manoucheri, M. (1996). Effect of clenbuterol on productive performance, body composition and muscle biochemistry in the rabbit. *Meat Science* **42** (4), 457-464.
- Hwang, D. F.; Hour, J. L. y Cheng, H. M. (2000). Effect of taurine on toxicity of oxidized fish oil in rats. *Food and Chemical Toxicology* **38** (7), 585-591.
- Ingold, K. U.; Bowry, V. W.; Stocjer, R. y Walling, C. (1993). Autoxidation of lipids and antioxidation by  $\alpha$ -tocopherol and ubiquinol in

homogeneous solution and in aqueous dispersions of lipids: unrecognized consequences of lipid particle size as exemplified by oxidation of human low-density lipoprotein. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **90 (1)**, 45-49.

Isharwal, S.; Misra, A.; Wasir, J. S. y Nigam, P. (2009). Diet & insulin resistance: a review & Asian Indian perspective. *Indian Journal of Medical Research* **129**, 485-499.

ISO (1981a). Analyse sensorielle guide pour l'implantation d'un local destiné aux analyses sensorielles. Norma ISO-DP 66.58. International Organization for Standardization: Genève, Switzerland.

ISO (1981b). Analyse sensorielle. Methodologie. Essai triangulaire. Norma ISO/TC 34/SC 12. International Organization for Standardization: Genève, Switzerland.

Isong, E. U.; Essien, E. U.; Eka, O. U. y Umoh, I. B. (2000). Sex- and organ-specific toxicity in normal and malnourished rats fed thermoxidized palm oil. *Food and Chemical Toxicology* **38 (11)**, 997-1004.

Jacobson T. A. (2008). Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **87 (6)**, 1981S-1990S.

James, M. J.; Gibson, R. A. y Cleland, L. G. (2000). Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *American Journal of Clinical Nutrition* **71 (1)**, 343S-348S.

- Jandacek, R. J. (1992). Commercial applications of fatty acid derivatives. En "Fatty acids and their health implications". Chow, C. K., págs. 399-427. Ed. Marcel Decker Inc., Nueva York.
- Jensen, C.; Guidera, J.; Skovgaard, I. M.; Staun, H.; Skibsted, L. H.; Jensen, S. K.; Møller Buckley, J. y Bertelsen, G. (1997). Effects of dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on  $\alpha$ -tocopherol deposition in porcine *m. Psoas major* and *m. Longissimus dorsi* and on drip loss, colour stability and oxidative stability of pork meat. *Meat Science* **45 (4)**, 491-500.
- Jensen, M.; Essén-Gustavsson, B. y Hakkarinen, J. (1988b). The effect of a diet with a high or low content of vitamin E on different skeletal muscles and myocardium in pigs. *Journal of Veterinary Medicine* **35 (7)**, 487-497.
- Jensen, M.; Hakkarainen, J.; Lindholm, A. y Jonsson, L. (1988a). Vitamin E requirement of growing swine. *Journal of Animal Science* **66 (12)**, 3101-3111.
- Jensen, R. G. (1992). Fatty acids in milk and dairy products. En "Fatty acids in food and their health implications." Chow, C. K., págs. 95-136. Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Jomova, K.; Vondrakova, D.; Lawson, M. y Valko, M. (2010). Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Molecular and Cellular Biochemistry* **345 (1-2)**, 91-104.
- Jonnalagadda, S. S.; Eganm, K.; Heimbach, J. T.; Harris, S. S. y Kris-Etherton, P. M. (1995). Fatty acid consumption pattern of Americans: 1987-1988 USDA nationwide food consumption survey. *Nutrition Research* **15 (12)**, 1767-1781.



- Jorgensen, H.; Jense, S. K. y Eggum, B. O. (1996). The influence of rapeseed oil on digestibility, energy metabolism and tissue fatty acid composition in pigs. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section A – Animal Science* **46 (2)**, 65-75.
- Jurado, A.; Carrapiso, A. I.; Ventans, J. y García, C. (2009). Changes in SPME-extracted volatile compounds from Iberian ham during ripening. *Grasas y Aceites* **60 (3)**, 262-270.
- Kaithwas, G. y Majumdar, D. K. (2010). Therapeutic effect of *Linum usitatissimum* (flaxseed/linseed) fixed oil on acute and chronic arthritic models in albino rats. *Inflammopharmacology* **18**, 127-136.
- Kang, J. X.; Wang, J.; Wu, L. y Kang, Z. B. (2004). Transgenic mice: fat-1 mice convert n-6 to n-3 fatty acids. *Nature* **427**, 504.
- Kanner, J. (1992). Mechanism of nonenzymic lipid peroxidation in muscle foods. En "Lipid oxidation in food". St. Angelo, A. J., págs. 55-73. Ed. Symposium Series. 500, American Chemical Society, Washington D. C.
- Karel, M. (1992). Kinetics of lipid oxidation. En "Physical chemistry of foods". Schwartzberg, H. G. y Hartel, R. W., págs. 651-668. Ed. IFT Basic Symposium Series, Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Katsaras, K. y Budras, K. D. (1993). The relationship of the microstructure of cooked hams to its properties and quality. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technology* **26 (3)**, 229-234.
- Kaufmann, W. E.; Andreasson, K. I.; Isakson, P. C. y Worley, P. F. (1997). Cyclooxygenases and the central nervous system. *Prostaglandins* **54 (3)**, 601-624.

- Kaul, N.; Kreml, R.; Austria, J. A.; Richard, M. N.; Edel, A. L.; Dibrov, E.; Hirono, S.; Zettler, M. E. y Pierce, G. N. (2008). A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers. *Journal of the American College of Nutrition* **27** (1), 51-58.
- Kawai, K.; Chou, P. H.; Matsuda, T.; Inoue, M.; Aaltonen, K.; Savela, K.; Takahashi, Y.; Nakamura, H.; Kimura, T.; Watanabe, T.; Sawa, R.; Dobashi, K.; Li, Y. S. y Kasai, H. (2010). DNA modifications by the omega-3 lipid peroxidation-derived mutagen 4-oxo-2-hexenal *in vitro* and their analysis in mouse and human DNA. *Chemical Research in Toxicology* **23** (3), 630-636.
- Kayaardi, S. y Gök, V. (2003). Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Science* **66** (1), 249-257.
- Kelawala, N. S. y Ananthanarayan, L. (2004). Antioxidant activity of selected foodstuffs. *Internacional Journal of Food Sciences and Nutrition* **55** (6), 511-516.
- Kerr, B. J.; McKeith, F. K. y Easter, R. A. (1995). Effect on performance and carcass characteristics of nursery to finisher pigs fed reduced crude protein, amino acid-supplemented diets. *Journal of Animal Science* **73** (2), 433-440.
- Khiaosa-ard, R.; Chungsiriwat, P.; Chommanart, N.; Kreuzer, M. y Jaturashita, S. (2011). Enrichment with n-3 fatty acid by tuna oil feeding of pigs: changes in composition and properties of bacon and different sausages as affected by the supplementation period. *Canadian Journal of Animal Science* **91** (1), 87-95.

- Kim, W. K.; Chung, M. K.; Kang, N. E.; Kim, M. H. y Park, O. J. (2003). Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **14** (3), 166-172.
- Kim, Y. J. (2003). Partial inhibition of biohydrogenation of linoleic acid increase the conjugated linoleic acid production of *Butyrivirio fibrisolvens* A38. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (15), 4258-4262.
- Kinsella, J. E. (1988). Food lipids and fatty acids: importance in food quality, nutrition, and health. *Food Technology* **42** (10), 124-140.
- Kobliakov, V. A. (2010). Mechanisms of tumor promotion by reactive oxygen species. *Biochemistry-Moscow* **75** (6), 675-685.
- Kornbrust, D. J. y Mavis, R. D. (1980). Relative susceptibility of microsomes from lung, heart, liver, kidney, brain and testes to lipid peroxidation: correlation with vitamin E content. *Lipids* **15**, 315-322.
- Kris-Etherton, P. M.; Grieger, J. A. y Etherton, T. D. (2009). Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **81** (2-3), 99-104.
- Laaksonen, D. E.; Nyyssönen, K.; Niskanen, L.; Rissanen, T. H. y Salonen, J. T. (2005). Prediction of cardiovascular mortality in middle-aged men by dietary and serum linoleic and polyunsaturated fatty acids. *Archives of Internal Medicine* **165** (2), 193-199.
- Labuza, T. P.; Acott, K.; Tatini, S. R. y Lee, R. Y. (1976). Water activity determination: a collaborative study of different methods. *Journal of Food Science* **41** (4), 910-917.

- Lam, H. S. y Proctor, A. (2003). Lipid hydrolysis and oxidation on the surface of milled rice. *Journal of the American Oil Chemist's Society* **80 (6)**, 563-567.
- Lawless, H. T. (1991). Bridging the gap between sensory science and products evaluation. En "Sensory science theory and applications in foods". Lawless, H. T. y Klein, B. P., págs. 1-36. Ed. IFT Symposium Series, Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Leaf, A. y Weber, P. C. (1987). A new era for science in nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition* **45**, 1048S-1053S.
- Leat, W. M. F.; Cuthbertson, A.; Howard, A. N. y Gresham, G. A. (1964). Studies on pigs reared on semi-synthetic diets containing no fat, beef tallow, and maize oil: composition of the carcasses and fatty acid composition of various depot fats. *Journal of Animal Science* **63**, 311-317.
- Lebret, B. (2008). Effects of feeding and rearing systems on growth, carcass composition and meat quality in pigs. *Animal* **2**, 1548-1558.
- Ledward, D. A. (1970). Metmyoglobin formation in beef stored in carbon dioxide enriched and oxygen depleted atmospheres. *Journal of Food Science* **35 (1)**, 33-37.
- Lee, S.; Decker, E. A.; Faustman, C. y Mancini, R. A. (2005). The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties. *Meat Science* **70 (4)**, 683-689.
- Lee, S.; Faustman, C.; Djordjevic, D.; Faraji, H. y Decker, E. A. (2006a). Effect of antioxidants on stabilization of meat products fortified with n-3 fatty acids. *Meat Science* **72 (1)**, 18-24.

- Lee, S.; Hernández, P.; Djordjevic, D.; Fajari, H.; Hollender, R.; Faustman, C. y Decker, E. A. (2006b). Effects of antioxidants and cooking on stability of n-3 fatty acids in fortified meat products. *Journal of Food Science* **71** (3), C233-C238.
- Lehninger, A. L.; Nelson, D. L. y Cox, M. M. (2001). Principios de Bioquímica, págs. 241-255. Ed. Omega S. A., Barcelona.
- Levitan, I.; Volkov, S. y Subbaiah, P. V. (2010). Oxidized LDL: diversity, patterns of recognition and pathophysiology. *Antioxidants & Redox Signaling* **13** (1), 39-75.
- Lewin, T. M. y Coleman, R. A. (2003). Regulation of miocardial triacylglycerol synthesis and methabolism. *Biochimica et Biophysica Acta* **1634**, 63-75.
- Libby, P. (2002). Una nueva teoría sobre la aterosclerosis. *Investigación y Ciencia* **julio**, 15-23.
- Lindqvist, H. M.; Sandberg, A. S.; Fagerberg, B. y Hulthe, J. (2009). Plasma phospholipid EPA and DHA in relation to atherosclerosis in 61-year-old men. *Atherosclerosis* **205** (2), 574-578.
- Long, J.; Liu, C.; Sun, L.; Gao, H. y Liu, J. (2009). Neuronal mitochondrial toxicity of malondialdehyde: inhibitory effects on respiratory function and enzyme activities in rat brain mitochondria. *Neurochemical Research* **34** (4), 786-794.
- López-Bote, C. J. y Rey, A. I. (2001). Susceptibility of hepatic tissue of Iberian pigs is enhanced by free-range feeding and reduced by vitamin E supplementation. *Nutrition Research* **21** (3), 541-549.

- Lopez-Huertas, E. (2009). Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological research* **61** (3), 200-207.
- López-López, I.; Cofrades, S. y Jiménez-Colmenero, F. (2009b). Low fat frankfurters with n-3 PUFA and edible seaweed: Effects of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Science* **83** (1), 148-154.
- López-López, I.; Cofrades, S.; Ruiz-Capillas, C. y Jiménez-Colmenero, F. (2009a). Design and nutritional properties of potential functional frankfurters based on lipid formulation, added seaweed and low salt content. *Meat Science* **83** (2), 255-262.
- Love, J. (1987). Mechanism of iron catalysis of lipid oxidation in warmed-over flavor of meat. En "Wamed-over flavor of meat". St. Angelo, A. J. y Bailey, M. E., págs. 19-39. Ed. Academic press, Orlando.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L. y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folinphenol reagent. *Journal Biological Chemistry* **193**, 265-275.
- Lugasi, A.; Neszlényi, K.; Hóvari, J.; Lebovics, K. V.; Hermán, A.; Ács, T.; Gundel, J. y Bodó, I. (2006). Dietary manipulation of meat fatty acid composition in Hungarian Mangalika and an industrial genotype pig. *Acta Alimentaria* **35** (4), 385-395.
- Lundy, F. P.; Block, E.; Bridges, W. C.; Bertrand, J. A. y Jenkins, T. C. (2004). Ruminant biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. *Journal of Dairy Science* **87** (4), 1038-1046.

- Lunn, J. y Theobald, H. E. (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutrition Bulletin* **31** (3), 178-224.
- Lu, P.; Li, D.; Yin, J.; Zhang, L. y Wang, Z. (2008). Flavour differences of cooked *Longissimus* muscle from Chinese indigenous pig breeds and hybrid pig breed (Duroc x Landrace x Large White). *Food Chemistry* **107** (4), 1529-1537.
- Lyon, D. H.; Francombe, M. A.; Hasdell, T. A. y Lawson, K. (1992). Guidelines for sensory analysis in food product development and control. Ed. Chapman & Hall, Londres.
- Magdeldin, S.; Elewa, Y.; Ikeda, T.; Ikei, J.; Zhang, Y.; Xu, B.; Nameta, M.; Fujinaka, H.; Yoshida, Y.; Yaoita, E. y Yamamoto, T. (2009). Dietary supplementation with arachidonic acid but not eicosapentaenoic or docosahexaenoic acids alter lipids metabolism in C57BL/6J mice. *General Physiology and Biophysics* **28** (3), 266-275.
- Maguire, L.; Konoplyannikov, M.; Ford, A.; Maguire, A. R. y O'Brien, N. M. (2003). Comparison of the cytotoxic effects of beta-sitosterol oxides and cholesterol oxide, 7 beta - hydroxycholesterol, in cultured mammalian cells. *The British Journal of Nutrition* **90** (4), 767-775.
- Makhoul, Z.; Kristal, A. R.; Gulati, R.; Luick, B.; Bersamin, A.; Boyer, B. y Mohatt, G. V. (2010). Associations of very high intakes of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids with biomarkers of chronic disease risk among Yup'ik Eskimos. *American Journal of Clinical Nutrition* **91** (3), 777-785.
- Maltin, C. A.; Delday, M. I.; Hay, S. M.; Innes, G. M. y Williams, P. E. V. (1990). Effects of bovine pituitary growth hormone alone or in combination with the beta-agonist clenbuterol on muscle growth and

composition in veal calves. The *British Journal of Nutrition* **63** (3), 535-545.

Marchand, C. M. (1982). Positional isomers of trans octadecenoic acids in margarines. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* **15**, 196-199.

Marken Lichtenbelt, W. D. y Daanen, H. A. M. (2003). Cold-induced metabolism. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **6**, 469-475.

Marklund, L.; Nyström, P-E; Stern, S.; Andersson-Eklund, E. y Andersson, L. (1999). Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. *Heredity* **82**, 134-141.

MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino) (2009). La alimentación mes a mes. Diciembre 2009. Avance de datos provisionales. Disponible en:

[http://www.marm.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_AMM%5CMM\\_2009\\_Diciembre.pdf](http://www.marm.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_AMM%5CMM_2009_Diciembre.pdf)

Martín, A.; Córdoba, J. J.; Aranda, E.; Córdoba, M. G. y Asensio, M. A. (2006). Contribution of a selected fungal population to the volatile compounds on dry cured ham. *International Journal of Food Microbiology* **110** (1), 8-18.

Martín, A.; Córdoba, J. J.; Núñez, F.; Benito, M. J. y Asensio, M. A. (2004). Contribution of a selected fungal population to proteolysis on dry-cured ham. *International Journal of Food Microbiology* **94** (1), 55-66.

Martín, L.; Antequera, T.; Ruiz, J.; Cava, R. Tejeda, J. F. y Córdoba, J. J. (1998b). Influence of the processing conditions of Iberian ham on



proteolysis during ripening. *Food Science and Technology International* **4**, 17-22.

Martín, L.; Córdoba, J. J.; Antequera, T.; Timón, M. L. y Ventanas, J. (1998a). Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of Iberian ham. *Meat Science* **49** (2), 145-153.

Martín, R. (1988). Contaminants in relation to the quality of seafoods. *Food Technology* **42** (12), 104-110.

Massaro, M.; Scoditti, E.; Carluccio, M. A.; Campana, M. C. y De Caterina, R. (2010). Omega-3 fatty acids, inflammation and angiogenesis: basic mechanisms behind the cardioprotective effects of fish and fish oils. *Cellular and Molecular Biology* **56** (1), 59-82.

Massaro, M.; Scoditti, E.; Carluccio, M. A. y De Caterina, R. (2008). Basic mechanisms behind the effects of n-3 fatty acids on cardiovascular disease. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **79** (3), 109-115.

Mataix, J. (2004). Lípidos alimentarios. En "Libro blanco de los omega-3. Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud". Mataix, J. y Gil, A., págs. 13-34. Ed. Puleva food, Granada. España.

Mayser, P.; Grimm, H. y Grimminger, F. (2002). n-3 fatty acids in psoriasis. *The British Journal of Nutrition* **87** (Suppl 1), S77-S82.

McClelland, G. B. (2004). Fat to the fire: the regulation of lipid oxidation with exercise and environmental stress. *Comparative Biochemistry and Physiology* **139** (3), 443-460.

- McDonald, P.; Edwards, R. A.; Greenhalgh, J. F. D. y Morgan, C. A. (1995). *Animal Nutrition*, pág. 28. Ed Longman Group Ltd, Reino Unido.
- Meyer, A.; Kirsch, H.; Domergue, F.; Abbadi, A.; Sperling, P.; Bauer, J.; Cirpus, P.; Zank, T. K.; Moreau, H.; Roscoe, T. J.; Zähringer, U. y Heinz, E. (2004). Novel fatty acid elongases and their use for the reconstitution of docosahexaenoic acid biosynthesis. *Journal of Lipid Research* **45** (10), 1899-1909.
- Micha, R. y Mozaffarian, D. (2009). *Trans* fatty acids: effects on metabolic syndrome, heart disease and diabetes. *Nature reviews. Endocrinology* **5**, 335-344.
- Miller III, E. R.; Pastor-Barriuso, R.; Dalal, D.; Riemersma, R. A.; Appel, L. J. y Guallar, E. (2005). Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Annals of Internal Medicine* **142** (1), 37-46.
- Molnar, P. J. (1989). A theoretical model to describe food quality. *Journal of Food Quality* **12** (1), 1-11.
- Monahan, F. J. (2000). Oxidation of lipids in muscle foods: fundamental and applied concerns. En "Antioxidants in muscle foods. Nutritional strategies to improve quality". Decker, E. A.; Faustman, C. y López-Bote, C. J., págs. 3-23. Ed. Wiler-Interscience. A John Wiley and Sons, Inc. Publication, Nueva York.
- Monziols, M.; Bonneau, M.; Davenel, A. y Kouba, M. (2007). Comparison of the lipid content and fatty acid composition of intermuscular and subcutaneous adipose tissues in pig carcasses. *Meat Science* **76** (1), 54-60.

- Mora, L.; Sentandreu, M. A.; Koistinen, K. M.; Fraser, P. D.; Toldrá, F. y Bramley, P. M. (2009). Naturally generated small peptides derived from myofibrillar proteins in Serrano dry-cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (8), 3228-3234.
- Mori, T. A. y Beilin, L. J. (2004). Omega-3 fatty acids and inflammation. *Current Atherosclerosis Reports* **6** (6), 461-467.
- Mortensen, P. B. y Clausen, M. R. (1996). Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* **31** (s216), 132-148.
- Motzer, E. A.; Carpenter, J. A.; Reynolds, A. E. y Lyon, C. E. (1998). Quality of restructured hams manufactured with PSE pork as affected by water binders. *Journal of Food Science* **63** (6), 1007-1011.
- Moya-Falcón, C.; Thomassen, M. S.; Jakobsen, J. V. y Ruyter, B. (2005). Effects of dietary supplementation of rapeseed oil on metabolism of [1-<sup>14</sup>C]18:1n-9, [1-<sup>14</sup>C]20:3n-6, and [1-<sup>14</sup>C]20:4n-3 in Atlantic salmon hepatocytes. *Lipids* **40** (7), 709-717.
- Mozaffarian, D.; Bryson, C. L.; Lemaitre, R. N.; Burke, G. L. y Siscovick, D. S. (2005). Fish intake and risk of incident heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* **45** (12), 2015-2021.
- Mozaffarian, D.; Katan, M. B.; Ascherio, A.; Stampfer, M. J. y Willett, W. C. (2006). Trans fatty acids and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine* **354** (15), 1601-1613.
- Muguerza, E.; Ansorena, D. y Astiasaran, I. (2004). Functional dry fermented sausages manufactured with high levels of n-3 fatty acids: nutritional

benefits and evaluation of oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84 (9)**, 1061-1068.

Muguerza, E.; Ansorena, D. y Astiasaran, I. (2003). Improvement of nutritional properties of Chorizo de Pamplona by replacement of pork backfat with soy oil. *Meat Science* **65 (4)**, 1361-1367.

Muñoz, C. y Sosvilla, S. (2009). FIAB. Informe económico 2009. Disponible en:

[http://www.fiab.es/archivos/documentoAutor/documentoautor\\_20100525174430.pdf](http://www.fiab.es/archivos/documentoAutor/documentoautor_20100525174430.pdf)

Muriana, F. J. G. (2004). Metabolismo de los ácidos grasos. En "Libro blanco de los omega-3. Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud". Mataix, J. y Gil, A., págs. 35-48. Ed. Puleva Food, Granada. España.

Muriel, M. E.; Antequera, M. T.; Petron, M. J.; Andrés, A. I. y Ruiz, J. (2005). Stereospecific analysis of fresh and dry-cured muscle phospholipids from Iberian pigs. *Food Chemistry* **90 (3)**, 437-443.

Nagura, M.; Saito, M.; Iwamori, M.; Sakakihara, Y. e Igarashi, T.. (2004). Alterations of fatty acid metabolism in membrane fluidity in peroxisome-defective mutant ZP102 cells. *Lipids* **39**, 43-50.

Nanditha, B. y Prabhasankar, P. (2009). Antioxidants in bakery products: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **49 (1)**, 1-27.

Nawar, W. W. (2000). Lípidos. En "Química de los alimentos". Fennema, O. R. pág. 165. Ed. Acribia, Zaragoza.

- Neuzil, J.; Thomas, S. R. y Stocker, R. (1997). Requirement for promotion, or inhibition by  $\alpha$ -tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine* **22 (1-2)**, 57-71.
- Nieto, R.; Lara, L.; Garcia, M. A.; Vílchez, M. A. y Aguilera, J. F. (2003). Effects of dietary protein content and food intake on carcass characteristics and organ weights of growing Iberian pigs. *Animal Science* **77 (1)**, 47-56.
- Niñoles, L.; Clemente, G.; Ventanas, S. y Benedito, J. (2007). Quality assessment of Iberian pigs through backfat ultrasound characterization and fatty acid composition. *Meat Science* **76 (1)**, 102-111.
- Niot, I.; Poirier, H.; Thu Trang Tran, T. y Besnard, P. (2009). Intestinal absorption of long chain fatty acids: evidence and uncertainties. *Progress in Lipid Research* **48 (2)**, 101-115.
- Nunomura, A.; Chiba, S.; Lippa, C. F.; Cras, P.; Kalaria, R. N.; Takea, A.; Honda, K.; Smith, M. A. y Perry G. (2004). Neuronal RNA oxidation is a prominent feature of familial Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease* **17 (1)**, 108-113.
- Núñez, F.; Rodríguez, M. M.; Bermúdez, M. E.; Córdoba, J. J. y Asensio, M. A. (1996). Composition and toxigenic potential of the mould population on dry-cured Iberian ham. *International Journal of Food Microbiology* **32 (1-2)**, 185-197.
- Nwanguma, B. C.; Achebe, A. C.; Ezeanyika, L. U. y Eze, L. C. (1999). Toxicity of oxidized fats II: tissue levels of lipid peroxides in rats fed a thermally oxidized corn oil diet. *Food and Chemical Toxicity* **37 (4)**, 413-416.

- O'Callaghan, Y. C.; Foley, D. A.; O'Connell, N. M.; McCarthy, F. O.; Maguire, A. R. y O'Brien, N. M. (2010). Cytotoxic and apoptotic effects of the oxidized derivatives of stigmasterol in the U937 human monocytic cell line. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (19), 10793-10798.
- Okuda, K.; Miyamoto, Y. y Skarzynski, D. J. (2002). Regulation of endometrial prostaglandin F2 $\alpha$  synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* **23** (1-2), 255-264.
- O'Leary, K. A.; Pascual-Tereasa, S.; Needs, P. W.; Bao, Y-P.; O'Brien, N. M. y Williamson, G. (2004). Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutation Research* **551** (1-2), 245-254.
- Olomu, J. M. y Baracos, V. E. (1991). Influence of dietary flaxseed oil on the performance, muscle protein deposition and fatty acid composition of broiler chicks. *Poultry Science* **70** (6), 1403-1411.
- Olveira, G.; Olveira, C.; Acosta, E.; Espíldora, F.; Garrido-Sánchez, L.; García-Escobar, E.; Rojo-Martínez, G.; Gonzalo, M. y Soriguer, F. (2010). Fatty acid supplements improve respiratory, inflammatory and nutritional parameters in adults with cystic fibrosis. *Archivos de Neumobroncología* **46** (2), 70-77.
- Orden Ministerial CTE/2740/2002 de 25 de octubre, por la que se establecen las bases reguladoras y se hace pública la convocatoria para la incorporación de grupos de investigación, desarrollo e innovación al Centro de Competencia Científico-Tecnológica en Productos Transformados de la Carne (CECOC-PTC), en el marco de la Acción Recursos y Tecnologías Agrarias del Programa Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias del Plan Nacional de Investigación

Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (2000-2003). (BOE 05/11/2002)

Orden Ministerial de 29 de junio de 1983, por la que se establece la Norma de Calidad para jamón cocido y fiambre de jamón, paleta cocida y fiambre de paleta y magro de cerdo cocido y fiambre de magro de cerdo. (BOE 05/07/1983)

Ordóñez, J. A.; Cambero, M. I.; D'Arrigo, M. y Hoz, L. (2003). Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados en la salud humana y enriquecimiento de la carne y productos cárnicos en ácidos grasos de la familia n-3 (2ª parte). *Alimentación, Nutrición y Salud* **10 (2)**, 31-40.

Ordóñez, J. A.; Cambero, M. I.; Fernández, L.; García, M. L.; García de Fernando, G.; Hoz, L. y Selgas, M. D. (1998a). Tecnología de los Alimentos (Volumen I), págs. 50-57. Ed. Síntesis, Madrid.

Ordóñez, J. A.; Cambero, M. I.; Fernández, L.; García, M. L.; García de Fernando, G.; Hoz, L. y Selgas, M. D. (1998b). Tecnología de los Alimentos (Volumen II), págs. 260-262. Ed. Síntesis, Madrid.

Ordóñez, J. A.; Hierro, E. M.; Bruna, J. M. y de la Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **39 (4)**, 329-367.

Ostrowska, E.; Cross, R. F.; Muralitharan, M.; Bauman; D. E. y Dunshea, F. R. (2003). Dietary conjugated linoleic acid differentially alters fatty acid composition and increases conjugated linoleic acid content in porcine adipose tissue. *The British Journal of Nutrition* **90 (5)**, 915-928.

- O'Sullivan, A. J.; O'Callaghan, Y. C.; Woods, J. A. y O'Brien, N. M. (2003). Toxicity of cholesterol oxidation products to Caco-2 and HepG2 cells: modulatory effects of alpha- and gamma-tocopherol. *Journal of Applied Toxicology* **23** (3), 191-197.
- O'Sullivan, M. G.; Kerry, J. P.; Buckley, D. J.; Lynch, P. B. y Morrissey, P. A. (1997). The distribution of dietary vitamin E in the muscles of the porcine carcass. *Meat Science* **45** (3), 297-305.
- Ozasa, H.; Furuta, S.; Miyazawa, S.; Osumi, T.; Hashimoto, T.; Mori, M.; Miura, S. y Tatibana, M. (1984) Biosynthesis of enzymes of rat liver mitochondrial beta-oxidation. *European Journal of Biochemistry* **144** (3), 453-458.
- Palacios, M. (2003). Fosfatos en productos cárnicos. *Eurocarne* **117**, 35-40.
- Paleari, M. A.; Moretti, V. M.; Beretta, G.; Mentasti, T. y Bersani, C. (2003). Cured products from different animal species. *Meat Science* **63** (4), 485-489.
- Panchaud, A.; Sauty, A.; Kernen, Y.; Decosterd, L. A.; Buclin, T.; Boulat, O.; Hug, C.; Pilet, M. y Roulet, M. (2006). Biological effects of a dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in cystic fibrosis patients: a randomized, crossover placebo-controlled trial. *Clinical Nutrition* **25** (3), 418-427.
- Parolari, G. (1996). Review: Achievements, needs and perspectives in dry-cured ham technology: The example of Parma ham. *Food Science and Technology International* **2**, 69-78.
- Pascual, J. V.; Rafecas, M.; Canela, M. A.; Boatella, J.; Bou, R.; Baucells, M. D. y Codony, R. (2006). Effect of increasing amounts of a linoleic-



rich dietary fat on the fat composition of four pig breeds. Part I: Backfat fatty acid evolution. *Food Chemistry* **96** (4), 538-548.

Pazos, M.; Sánchez, L. y Medina, I. (2005).  $\alpha$ -Tocopherol oxidation in fish muscle during chilling and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (10), 4000-4005.

Pelser, W. M.; Linssen, J. P. H.; Legger, A. y Houben, J. H. (2007). Lipid oxidation in n-3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Science* **75** (1), 1-11.

Perluigi, M.; Di Domenico, F.; Giorgi, A.; Schininà, M. E.; Coccia, R.; Cini, C.; Bellia, F.; Cambria, M. T.; Cornelius, C.; Butterfield, D. A. y Calabrese, V. (2010). Redox proteomics in aging rat brain: Involvement of mitochondrial reduced glutathione status and mitochondrial protein oxidation in the aging process. *Journal of Neuroscience Research* **88** (16), 3498-3507.

Peterla, T. A. y Scanes, C. G. (1990). Effect of beta-adrenergic agonists on lipolysis and lipogenesis by porcine adipose tissue in vitro. *Journal of Animal Science* **68** (4), 1024-1029.

Phinney, S. D.; Odin, R. S.; Johnson, S. B. y Holman, R. T. (1990). Reduced arachidonate in serum phospholipids and cholesteryl esters associated with vegetarian diets in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* **51**, 385-392.

Portocarrero, S. M.; Newman, M. y Mikel, B. (2002). *Staphylococcus aureus* survival, staphylococcal enterotoxin production and shelf stability of country-cured hams manufactured under different processing procedures. *Meat Science* **62** (2), 267-273.

- Prabhu, G. A.; Doerscher, D. R. y Hull, D. H. (2004). Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. *Journal of Food Science* **69** (5), C388-C392.
- Pryor, W. A.; Stanley, J. P. y Blair, E. (1976) Autooxidation of polyunsaturated fatty acids. II. A suggested mechanism for the formation of TBA-reactive materials from prostaglandin-like endoperoxides. *Lipids* **11** (5), 370-379.
- Qi, B.; Fraser, T.; Mugford, S.; Dobson, G.; Sayanova, O.; Butler, J.; Napier, J. A.; Stobart, A. K. y Lazarus, C. M. (2004). Production of very long chain polyunsaturated omega-3 and omega-6 fatty acids in plants. *Nature Biotechnology* **22**, 739-745.
- Quiles, J. L.; Huertas, J. R.; Battino, M.; Ramírez-Tortosa, M. C.; Casinillo, M.; Mataix, J.; López-Frías, M. y Mañas, M. (2002). The intake of fried virgin olive or sunflower oils differentially induces oxidative stress in rat liver microsomes. *The British Journal of Nutrition* **88** (1), 57-65.
- Raes, K.; Haak, L.; Balcaen, A.; Claeys, E.; Demeyer, D. y Smet, S. (2004). Effect of linseed feeding at similar linoleic acid levels on the fatty acid composition of double-muscled Belgian Blue young bulls. *Meat Science* **66** (2), 307-315.
- Ramírez, M. R.; Morcuende, D. y Cava, R. (2007). Fatty acid composition and adipogenic enzyme activity of muscle and adipose tissue, as affected by Iberian x Duroc pig genotype. *Food Chemistry* **104** (2), 500-509.
- Raper, N. R.; Cronin, F. J. y Exler, J. (1992). Omega-3 fatty acid content of the U.S. food supply. *Journal of the American College of Nutrition* **11** (3), 304-308.

- Rastelli, E.; Giraffa, G.; Carminatti, D.; Parolari, G. y Barbuti, S. (2005). Identification and characterisation of halotolerant bacteria in spoiled dry-cured hams. *Meat Science* **70** (2), 241-246.
- Ratnayake, W. M. N.; Hollywood, R.; O'Grady, E. y Beare-Roger, J. L. (1990). Determination of cis and trans-octadecenoic acids in margarines by gas liquid chromatography infrared spectrophotometry. *Journal of the American Oil Chemist's Society* **67** (11), 804-809.
- Rawn, J. D. (1989). Bioquímica. Volumen I. pág. 210. Ed. Interamericana-McGraw-Hill, Madrid.
- Real Decreto 1376/2003, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor. (BOE 14/11/2003).
- Real Decreto 1469/2007, por el que se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña de lomo ibéricos. (BOE 03/11/2007).
- Realini, C. E.; Duran-Montgé, P.; Lizardo, R.; Gispert, M.; Oliver, M. A. y Esteve-García, E. (2010). Effect of source of dietary fat on pig performance, carcass characteristics and carcass fat content, distribution and fatty acid composition. *Meat Science* **85** (4), 606-612.
- Reiter, E.; Jiang, Q. y Christen, S. (2007). Anti-inflammatory properties of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol. *Molecular Aspects of Medicine* **28** (5-6), 668-691.
- Rey, A.; López-Bote, C.; Soares, M. e Isabel, B. (1997). Determination of  $\alpha$ -tocopherol in pork with high intramuscular fat content. *Grasas y aceites* **47** (5), 331-334.

- Reynolds, A. E.; Harrison, M. A.; Rose-Morrow, R. y Lyon, C. E. (2001). Validation of dry cured ham process for control of pathogens. *Journal of Food Science* **66 (9)**, 1373-1379.
- Rhee, K. S.; Davidson, T. L.; Knabe, D. A.; Cross, H. R.; Ziprin, Y. A. y Rhee, K. C. (1988b). Effect of dietary high-oleic sunflower oil on pork carcass traits and fatty acid profiles of raw tissues. *Meat Science* **24 (4)**, 249-260.
- Rhee, K. S. (1992). Fatty acids. En "Meat and meat products". Chow, C. K., págs. 65-93. Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Rhee, K. S.; Ziprin, Y. A.; Ordóñez, G. y Bohac, C. E. (1988a). Fatty acids profiles of the total lipids and lipid oxidation in pork muscles as affected by canola oil in the animal diet and muscle location. *Meat Science* **23 (3)**, 201-210.
- Richards, M. P. y Li, R. (2004). Effects of released iron, lipid peroxides and ascorbate in trout hemoglobin-mediated lipid oxidation of washed cod muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52 (13)**, 4323-4329.
- Rigotti, A. (2007). Absorption, transport and tissue delivery of vitamin E. *Molecular Aspects of Medicine* **28 (5-6)**, 423-436.
- Riley, P.; Enser, M.; Hallet, K.; Hewett, B.; Wood, J. D. y Atkinson, J. (1998a). Long-term feeding of low levels of linseed before slaughter to manipulate tissue fatty acid composition and improve pork nutritional value. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress*, Birmingham, England, 5-9 July, pág. 16.

- Riley, P.; Enser, M.; Hallet, K.; Hewett, B.; Wood, J. D. y Atkinson, J. (1998b). Short-term feeding of a high level of linseed before slaughter to rapidly alter tissue fatty acid composition and improve pork nutritional value. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS Congress*, Birmingham, England, 5-9 July, pág. 28.
- Riley, P. A.; Enser, M.; Nute, G. R. y Wood, J. D. (2000). Effects of dietary linseed on nutritional value and other quality aspects of pig muscle and adipose tissue. *Animal Science* **71**, 483-500.
- Rinker, K. D.; Kirkpatrick, A. P.; Ting-Beall, H. P.; Shepherd, R. D.; Levin, J. D.; Irick, J.; Thomas, J. L. y Truskey, G. A. (2004). Linoleic acid increases monocyte deformation and adhesion to endothelium. *Atherosclerosis* **177 (2)**, 275-285.
- Rizza, S.; Tesauro, M.; Cardillo, C.; Galli, A.; Iantorno, M.; Gigli, F.; Sbraccia, P.; Federici, M.; Quon, M. J. y Lauro, D. (2009). Fish oil supplementation improves endothelial function in normoglycemic offspring of patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* **206 (2)**, 569-574.
- Rodríguez, M.; Núñez, J. J.; Córdoba, C.; Sanabria, E.; Bermúdez, E. y Asensio, M. A. (1994). Characterization of *Staphylococcus* spp. and *Micrococcus* spp. Isolated from Iberian ham throughout the ripening process. *International Journal of Food Microbiology* **24 (1-2)**, 329-335.
- Rodríguez-Rebollo, M. (1998b). Manual de Industrias Cárnicas I., págs. 292-304. Ed. Publicaciones Técnicas Alimentarias, S. A. y Cárnica 2000, Madrid.
- Rodríguez-Rebollo, M. (1998a). Manual de Industrias Cárnicas I., págs. 335-350. Ed. Publicaciones Técnicas Alimentarias, S. A. y Cárnica 2000, Madrid.

- Romans, J. R.; Johnson, R. C.; Wulf, D. M.; Libal, G. W. y Costello, W. J. (1995a). Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and  $\omega$ -3 fatty acid content of pork. I. Dietary level of flaxseed. *Journal of Animal Science* **73** (7), 1982-1986.
- Romans, J. R.; Johnson, R. C.; Wulf, D. M.; Libal, G. W. y Costello, W. J. (1995b). Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and  $\omega$ -3 fatty acid content of pork. II. Duration of 15% dietary flaxseed. *Journal of Animal Science*, **73** (7), 1987-1999.
- Rosenvold, K.; Laerke, H. N.; Jensen, S. K.; Karlsson, A., Lúndström, K. y Andersen H. J. (2002). Manipulation of critical quality indicators and attributes in pork through vitamin E supplementation, muscle glycogen reducing finishing feeding and pre-slaughter stress. *Meat Science* **62** (4), 485-496.
- Rossel, C. M. y Toldrá, F. (1998). Comparison of muscle proteolytic and lipolytic enzyme levels in raw hams from Iberian and White pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **76** (1), 117-122.
- Ruggiero, C.; Lattanzio, F.; Lauretani, F.; Gasperini, B.; Andrés-Lacueva, C. y Cherubini, A. (2009). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and immune-mediated diseases: inflammatory bowel disease and rheumatoid arthritis. *Current Pharmaceutical Design* **15** (36), 4135-4148.
- Rui-Qi, L.; Yan-Jun, H.; Wen-Yuan, Z.; Gai-Ming, Z. y Yan-Xia, L. (2009). Influence of salt content on lipolysis during processing of dry-cured jinhua ham. *Modern Food Science and Technology* **24**, 961-965.

- Ruiz, J. (1996). Estudio de parámetros sensoriales y físico-químicos implicados en la calidad del jamón Ibérico. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura.
- Ruiz, J. y Petrón, M. J. (2001). Métodos para la clasificación de la materia prima. En "Tecnología el jamón ibérico. De los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma". Ventanas, J., págs. 131-160. Ed. Mundi Prensa, Madrid.
- Ruiz-Ramírez, J.; Arnau, J.; Serra, X. y Gou, P. (2005b). Effect of pH<sub>24</sub>, NaCl content and proteolysis index on the relationship between water content and texture parameters in *Biceps femoris* and *Semimembranosus* muscles in dry-cured ham. *Meat Science* **72** (2), 185-194.
- Ruiz-Ramírez, J.; Arnau, J.; Serra, X. y Gou, P. (2005a). Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science* **70** (4), 579-587.
- SACN/COT (*Scientific Advisory Committee on Nutrition/Committee on Toxicity*) (2004) *Advice on Fish Consumption: Benefits and Risks*. HMSO: Londres.
- Disponible en:
- <http://cot.food.gov.uk/cotreports/cotjointreps/sacnfishconsumption>
- Saeki, K.; Matsumoto, K.; Kinoshita, M.; Suzuki, I.; Tasaka, Y.; Kano, K.; Taguchi, Y.; Mikami, K.; Hirabayashi, M.; Kashiwazaki, N.; Hosoi, Y.; Murata, N. e Iritani, A. (2004). Functional expression of a Delta 12 fatty acid desaturase gene from spinach in transgenic pigs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America* **101** (17), 6361-6366.

- Sagild, U.; Littauer, J.; Sand Jespersen, C. y Anderson, S. (1966). Epidemiological studies in Greenland 1962-1964. I. Diabetes mellitus in Eskimos. *Acta Medica Scandinavica* **179** (1), 29-39.
- Saito, Y.; Yokoyama, M.; Origasa, H.; Matsuzaki, M.; Matsuzawa, Y.; Ishikawa, Y.; Oikawa, S.; Sasaki, J.; Hishida, H.; Itakura, H.; Kita, T.; Kitabatake, A.; Nakaya, N.; Sakata, T.; Shimada, K. y Shirato, K. (2008). Effects of EPA on coronary artery disease in hypercholesterolemic patients with multiple risk factors: sub-analysis of primary prevention cases from the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS). *Atherosclerosis* **200** (1), 135-140.
- Salih, A. M.; Smith, D. M.; Price, J. F. y Dawson L. E. (1987). Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poultry Science* **66** (9), 1483-1488.
- Sánchez-Peña, C. M.; Luna, G.; García-González, D. L. y Aparicio, R. (2005). Characterization of French and Spanish dry cured hams: influence of the volatiles from the muscles and the subcutaneous fat quantified by SPME-GC. *Meat Science* **69** (4), 635-645.
- Sandler, S. R. y Karo, W. (1992). *Sourcebook of advanced organic laboratory preparations*. San Diego: Academic Press.
- Santos, C.; Hoz, L.; Cambero, M. I.; Cabeza, M. C. y Ordóñez, J. A. (2008). Enrichment of dry-cured ham with  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol by the use of linseed oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate in pig diets. *Meat Science* **80** (3), 668-674.
- Santos, C.; Ordóñez, J. A.; Cambero, I.; D'Arrigo, M. y Hoz, L. (2004). Physicochemical characteristics of an  $\alpha$ -linolenic acid and  $\alpha$ -tocopherol-enriched cooked ham. *Food Chemistry* **88** (1), 123-128.



- Santos-Silva, J.; Bessa, R. J. B. y Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science* **77 (2)**, 187-194.
- Sanz, M.; Flores, A.; Pérez de Ayala, P. y López-Bote, C. J. (1999). Higher lipid accumulation in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. *British Poultry Science* **40 (1)**, 95-101.
- Sárraga, C; Gil, M. y García-Regueiro, J. A. (1993). Comparison of calpain and cathepsin (B, L and D) activities during dry-cured ham processing from heavy and light Large White pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **62 (1)**, 71-75.
- Scheideler, S. E.; Jaroni, D. y Froning, G. (1998). Strain and age effects on egg composition from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. *Poultry Science* **77 (2)**, 192-196.
- Schiavone, A.; Tarantola, M.; Perona, G.; Pagliasso, S.; Badino, P.; Odore, R.; Cuniberti, B. y Lussiana, C. (2004). Effect of dietary clenbuterol and cimaterol on muscle composition, beta-adrenergic and androgen receptor concentrations in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **88 (3-4)**, 94-100.
- Schinkel, A. P.; Mills, S. E.; Weber, T. E. y Eggert, J. M. (2002). A review of genetic and nutritional factors affecting fat quality and belly firmness. National Swine Improvement Federation (NSIF). Disponible en:  
<http://www.nsif.com/Conferences/2002/ReviewGeneticNutritionalFactors.htm>
- Schivazappa, C.; Degni, M.; Nanni-Costa, L.; Russo, V.; Buttazzoni, L. y Virgili, R. (2002). Analysis of raw meat to predict proteolysis in Parma ham. *Meat Science* **60 (1)**, 77-83.

- Schmidt, R. H.; Marshall, M. R. y O'Keefe, S. F. (1995). Total fat. En "Analyzing food for nutrition labeling and hazardous contaminants". Jeon, I. J. e Ikins, W. G., págs. 29-56. Ed. Marcel Dekker Inc., Nueva York.
- Schneider, C. (2005). Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition and Food Research* **49** (1), 7-30.
- Semma, M. (2002). Trans fatty acids: Properties, benefits and risks. *Journal of Health Science* **48** (1), 7-13.
- Seppanen, C. M.; Song, Q. y Csallany, A. S. (2010). The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats and food systems. *Journal of the American Oil Chemists Society* **87** (5), 469-481.
- Serra, X.; Ruíz-Ramírez, J.; Arnau, J. y Gou, P. (2005). Texture parameters of dry-cured ham *m. Biceps femoris* samples dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Science* **69** (2), 249-254.
- Sforza, S.; Pigazzani, A.; Motti, M.; Porta, C.; Virgili, R.; Galaverna, G.; Dossena, A. y Marchelli, R. (2001). Oligopeptides and free amino acids in Parma hams of known cathepsin B activity. *Food Chemistry* **75** (3), 267-273.
- Shahidi, F. y Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews* **39**, 4067-4079.
- Sheard, P. R.; Enser, M.; Wood, J. D.; Nute, G. R.; Gill, B. P. y Richardson, R. I. (2000). Shelf life and quality of pork and pork products with raised n-3 PUFA. *Meat Science* **55** (2), 213-221.

- Shindarska, Z. (1995). Comparative studies on the effects of clenbuterol applied at different doses and treatment duration on carcass composition of castrated weaned lambs. *Zhivotnov"dni-Nauki* **32 (5-8)**, 130-133.
- Sillence, M. N.; Munn, K. J. y Campbell, R. G. (2002). Manipulation of growth in pigs through treatment of the neonate with clenbuterol and somatotropin. *Journal of Animal Science* **80**, 1852-1862.
- Simic, M. G.; Jovanovic, S. V. y Niki, E. (1992). Mechanisms of lipid oxidative processes and their inhibition. En "Lipid oxidation in food". St. Angelo, A. J., págs. 14-32. Ed. Symposium Series 500, American Chemical Society, Washington D. C.
- Simopuolos, A. P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *American Journal of Clinical Nutrition* **54 (3)**, 438-463.
- Simopoulos, A. P. (1994). Fatty acids. En "Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals". Goldberg I., págs. 355-392. Ed. Springer, Nueva York.
- Simopoulos, A. P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **70 (3)**, 560S-569S.
- Simopoulos, A. P. (2000). Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* **79 (7)**, 961-970.
- Simopoulos, A. P. (2001). N-3 fatty acids and human health: defining strategies for public policy. *Lipids* **36 (Suppl)**, S83-S89.

- Simopoulos, A. P. (2002a). The importance of the ratio of omega6/omega3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **56 (8)**, 365-379.
- Simopoulos, A. P. (2002b). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition* **21 (6)**, 495-505.
- Simopoulos, A. P. (2004). Omega-6 / Omega-3 essential fatty acid ratio in chronic diseases. *Food Reviews International* **20 (1)**, 77-90.
- Sioen, I.; Hacquebard, M.; Hick, G.; Maindix, V.; Larondelle, Y.; Carpentier, Y. A. y De Henauw, S. (2009). Effect of ALA-enriched food supply on cardiovascular risk factors in males. *Lipids* **44 (7)**, 603-611.
- Smit, E. N.; Muskiet, F. A. J. y Boersma, E. R. (2004). The possible role of essential fatty acids in the pathophysiology of malnutrition: a review. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **71 (4)**, 241-250.
- Soares, M. (1999). Utilización de distintas fuentes de grasa y del emulsionante de lecitina de soja en piensos de primera edad para los lechones. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.
- Soni, M. G.; Thurmond, T. S.; Miller III, E. R.; Spriggs, T.; Bendich, A. y Omaye, S. T. (2010). Safety of vitamins and minerals: controversies and perspective. *Toxicological Sciences* **118 (2)**, 348-355.
- Specht-Overholt, S.; Romans, J. R.; Marchello, M. J.; Izard, R. S.; Crews, M. G.; Simon, D. M.; Costello, W. J. y Evenson, P. D. (1997). Fatty acid composition of commercially manufactured omega-3 enriched pork

products, haddock and mackerel. *Journal of Animal Science* **75** (9), 2335-2343.

Spencer, L.; Mann, C.; Metcalfe, M.; Webb, M.; Pollard, C.; Spencer, D.; Berry, D.; Steward, W. y Dennison, A. (2009). The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *European Journal of Cancer* **45** (12), 2077-2086.

Spiteller, G. (1998). Linoleic acid peroxidation-the dominant lipid peroxidation process in low density lipoprotein-and its relationship to chronic diseases. *Chemistry and Physics of Lipids*, **95** (2), 106-162.

Stark, A. H.; Crawford, M. A. y Reifen, R. (2008). Update on alpha-linolenic acid. *Nutrition Reviews* **66** (6), 326-332.

St John, L. C.; Young, C. R.; Knabe, D. A.; Thompson, L. D.; Schelling, G. T.; Grundy, S. M. y Smith, S. B. (1987). Fatty acids profiles and sensory carcass traits of tissues from steers and swine fed an elevated monounsaturated fat diet. *Journal of Animal Science* **64**, 1441-1447.

Stender, S. y Dyerberg, J. (2004). Influence of trans fatty acids on health. *Annals of Nutrition and Metabolism* **48** (2), 61-66.

Stirban, A.; Nandorean, S.; Götting, C.; Tamler, R.; Pop, A.; Negrean, M.; Gawlowski, T.; Stratmann, B. y Tschoepe, D. (2010). Effects of n-3 fatty acids on macro- and microvascular function in subjects with type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Clinical Nutrition* **91** (3), 808-813.

Suresh, Y. y Das, U. N. (2003). Long-chain polyunsaturated fatty acids and chemically induced diabetes mellitus: Effect of  $\omega$ -3 fatty acids. *Nutrition* **19** (3), 213-228.

- Szczesniak, A. S. (1986). Sensory texture evaluation methodology. *Reciprocal Meat Conference Proceedings* **39**, 86-96.
- Thiel-Cooper, R. L.; Parrish Jr, F. C.; Sparks, J. C.; Wiegand, B. R. y Ewan, R. C. (2001) Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *Journal of Animal Science* **79 (7)**, 1821-1828.
- Thorsdottir, I.; Hill, J. y Ramel, A. (2004). Omega-3 acid supply from milk associates with lower type 2 diabetes in men and coronary heart disease in women. *Preventive Medicine* **39 (3)**, 630-634.
- Thusgaard, M.; Christensen, J. H.; Mørn, B.; Andersen, T. S.; Vige, R.; Arildsen, H.; Schmidt, E. B. y Nielsen, H. (2009). Effect of fish oil (n-3 polyunsaturated fatty acids) on plasma lipids, lipoproteins and inflammatory markers in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **41 (10)**, 760-766.
- Tischendorf, F.; Schone, F.; Kirchheim, U. y Jahreis, G. (2002). Influence of a conjugated linoleic acid mixture on growth, organ weights, carcass traits and meat quality in growing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **86 (3-4)**, 117-128.
- Toldrá, F.; Aristoy, M. C. y Flores, M. (2009). Relevance of nitrate and nitrite in dry-cured ham and their effects on aroma development. *Grasas y aceites* **60 (3)**, 291-296.
- Toldrá, F. (2006). The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions. *Trends in Food Science and Technology* **17 (4)**, 164-168.

- Tulenko, T. N. y Summer, A. E. (2002). The physiology of lipoproteins. *Journal of Nuclear Cardiology* **9 (6)**, 638-649.
- Uauy, R. y Hoffmen, D. R. (1991). Essential fatty acids requirements for normal eye and brain development. *Seminario de Perinatología* **15**, 449-455.
- Uauy, R. y Olivares, S. (2002). Importancia de las grasas y aceites para el crecimiento y desarrollo de los niños. Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/T4660t/t4660t05.htm>
- Uauy, R.; Treen, M. y Huffman, D. (1989). Essential fatty acids metabolism and requirements during development. *Seminario de Perinatología* **13**, 118-130.
- Upston, J. M.; Terentis, A. C. y Stocker, R. (1999). Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement. *The FASEB Journal: Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology* **13 (9)**, 977-994.
- Ursin, V. M. (2003). Symposium: modification of plant lipids for human health: development of functional land-based omega-3 fatty acids. *Journal of Nutrition* **133 (12)**, 4271-4274.
- Valencia, I.; Ansorena, D. y Antiasarán, I. (2006). Nutritional and sensory properties of dry fermented sausages enriched with n-3 PUFAs. *Meat Science* **72 (4)**, 727-733.
- Valencia, I.; O'Grady, M. N.; Ansorena, D.; Antiasarán, I. y Kerry, J. P. (2008). Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork

sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. *Meat Science* **80** (4), 1046-1054.

Valenzuela, B. A.; Sanhueza, J. y Nieto, S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasas y Aceites* **54** (3), 295-303.

Van de Rest, O.; Spiro, A. 3rd; Krall-Kaye, E.; Geleijnse, J. M.; de Groot L. C. y Tucker, K. L. (2009). Intakes of (n-3) fatty acids and fatty fish are not associated with cognitive performance and 6-year cognitive change in men participating in the Veterans Affairs Normative Aging Study. *The Journal of Nutrition* **139** (12), 2329-2336.

Varga, Z. (2008). Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the prevention of atherosclerosis. *Orvosi Hetilap* **149** (14), 627-637.

Ventanas, J.; Córdoba, J. J.; Antequera, T.; García, C.; Asensio, M. A. y López-Bote, C. (1989). Physicochemical changes during the postsalting period of Iberian hams. *Proceedings, International Congress of Meat Science and Technology* **35**, 707-709.

Ventanas, J. (2001). Tecnología del jamón ibérico. De los sistemas tradicionales a la explotación racional del sabor y el aroma, págs. 73-343. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

Ventanas, J. (2006). El jamón ibérico. De la dehesa al paladar, págs. 17-22. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

Ventanas, S.; Estévez, M.; Ventanas, J. y Ruíz, J. (2006). Método analítico para la clasificación de la materia prima de cerdo ibérico en función de la alimentación recibida durante la fase de cebo. *Eurocarne* **148**, 35-44.



- Ventanas, S.; Ventanas, J.; Estévez, M. y Ruiz, J. (2010). Analysis of volatile molecules in Iberian dry-cured loins as affected by genetic, feeding systems and ingredients. *European Food Research and Technology* **231** (2), 225-235.
- Versluys, J.; McMIndes, M. y Kesel, G. (1996). Development of quality cooked ham without the use of phosphate. *Fleischwirtschaft* **76** (5), 526-527.
- Vestergaard, C. S.; Erbou, S. G.; Thauland, T.; Adler-Nissen, J. y Berg, P. (2005). Salt distribution in dry-cured ham measured by computer tomography and image analysis. *Meat Science* **69** (1), 9-15.
- Vestergaard, C. S. y Parolari, G. (1999). Lipid and cholesterol oxidation products in dry-cured ham. *Meat Science* **52** (4), 397-401.
- Vestergaard, C. S.; Schivazappa, C. y Virgili, R. (2000). Lipolysis in dry cured ham maturation. *Meat Science* **55** (1), 1-5.
- Videla, L. A.; Rodrigo, R.; Araya, J. y Poniachik, J. (2004). Oxidative stress and depletion of hepatic long-chain polyunsaturated fatty acids may contribute to nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology & Medicine* **37** (9), 1499-1507.
- Vijaimohan, K.; Jainu, M.; Sabitha, K. E.; Subramaniam, S.; Anandhan, C. y Shyamala-Devi, C. S. (2006). Beneficial effects of alpha linolenic acid rich flaxseed oil on growth performance and hepatic cholesterol metabolism in high fat diet fed rats. *Life Sciences* **79** (5), 448-454.
- Virgili, R.; Parolari, G.; Schivazappa, C.; Bordini, C. S. y Borri, M. (1995). Sensory and texture quality of dry-cured ham as affected by

endogenous cathepsin B activity and muscle composition. *Journal of Food Science* **60** (6), 1183-1186.

Virgili, R. y Schivazappa, C. (2002). Muscle traits for long matured dried meats. *Meat Science* **62** (3), 331-343.

Vizia, B.; Raia, V.; Spano, C.; Pavlidis, C.; Coruzzo, A. y Alessio, M. (2003). Effect of an 8-month treatment with  $\omega$ -3 fatty acids (eicosapentaenoic and docosahexaenoic) in patients with cystic fibrosis. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* **27** (1), 52-57.

Vossenbergh, J. L. C. M. y Joblin, K. N. (2003). Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Letters in Applied Microbiology* **37** (5), 424-428.

Vukovic, I. y Klettner, P. G. (2003a). Drying of cured ham in a ripening room and in vacuum with a following ripening. *Fleischwirtschaft* **83**, 126-128.

Vukovic, I. y Klettner, P. G. (2003b). Vacuum and conventional drying in cured ham production followed by ripening. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach* **42**, 145-150.

Vulevic, J.; Rastall, R. A. y Gibson, G. R. (2004). Developing a quantitative approach for determining the *in vitro* prebiotic potential of dietary oligosaccharides. *FEMS Microbiology Letters* **236** (1), 153-159.

Wahrburg, U.; Kratz, M. y Cullen, P. (2002). Mediterranean diet, olive oil and health. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**, 698-705.

- Wakil, S. J.; Stoops, J. K. y Joshi, V. C. (1983). Fatty acid synthesis and its regulation. *Annual Review of Biochemistry* **52**, 537-579.
- Wakita, Y.; Otani, M.; Iba, K. y Shimada, T. (1998). Co-integration, co-expression and co-segregation of an unlinked selectable marker gene and NtFAD3 gene in transgenic rice plants produced by particle bombardment. *Genes & Genetic Systems* **73 (4)**, 219-226.
- Wander, R. C. (2001). Lipid Oxidation in biological systems enriched with long chain n-3 fatty acids. En "Handbook of nutraceuticals and functional foods". Wildman, R. E. C., págs. 305-329. Ed. CRC Press, Nueva York.
- Wang, S.; Wu, D.; Matthan, N. R.; Lamon-Fava, S.; Lecker J. L. y Lichtenstein, A. H. (2009). Reduction in dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid plus docosahexaenoic acid ratio minimizes atherosclerotic lesion formation and inflammatory response in the LDL receptor null mouse. *Atherosclerosis* **204 (1)**, 147-155.
- Wendland, E.; Farmer, A.; Glasziou, P. y Neil, A. (2006). Effect of alpha linolenic acid on cardiovascular risk markers: a systematic review. *Heart* **92 (2)**, 166-169.
- Wiking, L. y Nielsen, J. H. (2004). The influence of oxidation on proteolysis in raw milk. *Journal of Dairy Research* **71 (2)**, 196-200.
- Wilkinson, P.; Leach, C.; Ah-Sing, E. E.; Hussain, N.; Miller, G. J.; Millward, D. J. y Griffin B. A. (2005). Influence of alpha-linolenic acid and fish-oil on markers of cardiovascular risk in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Atherosclerosis* **181 (1)**, 115-124.

- Wiseman, J.; Redshaw, M. S.; Jagger, S.; Nute, G. R. y Wood, J. D. (2000). Influence of type and dietary rate of inclusion of oil on meat quality of finishing pigs. *Animal Science*, **70** (2), 307-315.
- Witte, V. C.; Krause, G. F. y Bailey, M. E. (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science* **35** (5), 582-585.
- Witte, D. P.; Ellis, M.; McKeith, F. K. y Wilson, E. R. (2000). Effect of dietary lysine level and environmental temperature during the finishing phase on the intramuscular fat content of pork. *Journal of Animal Science* **78** (5), 1272-1276.
- Wood, J. D.; Buxton, P. J.; Whittington, F. M. y Enser, M. (1986). The chemical composition of fat tissues in the pig: effects of castration and feeding treatment. *Livestock Production Science* **15** (1), 73-82.
- Wood, J. D. y Enser, M. (1997). Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition* **78** (Suppl. 1), S49-S60.
- Wood, J. D.; Enser, M.; Fisher, A. V.; Nute, G. R.; Sheard, P. R.; Richardson, R. I.; Hughes, S. I. y Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* **78** (4), 343-358.
- Wood, J. D.; Nute, G. R.; Richardson, R. I.; Whittington, F. M.; Southwood, O.; Plastow, G.; Mansbridge, R.; da Costa, N. y Chang, K. C. (2004). Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Science* **67** (4), 651-667.

- Wood, J. D.; Richardson, R. I.; Nute, G. R.; Fisher, A. V.; Campo, M. M.; Kasapidou, E.; Sheard, P. R. y Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science* **66** (1), 21-32.
- Wright, S. A.; O'Prey, F. M.; McHenry, M. T.; Leahey, W. J.; Devine, A. B.; Duffy, E. M.; Johnston, D. G.; Finch, M. B.; Bell, A. L. y McVeigh, G. E. (2008). A randomised interventional trial of omega-3-polyunsaturated fatty acids on endothelial function and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Annals of Rheumatic Diseases* **67**, 841-848.
- Yang, B. (2003). Natural vitamin E: activities and sources. *Lipid Technology* **Noviembre**, 125-130.
- Yang, Y.; Zhao, C.; Xiao, S.; Zhan, H.; Du, M.; Wu, C. y Ma, C. (2010). Lipids deposition, composition and oxidative stability of subcutaneous adipose tissue and Longissimus dorsi muscle in Guizhou mini-pig at different developmental stages. *Meat Science* **84** (4), 684-690.
- Yep, Y. L.; Li, D.; Mann, N. J.; Bode, O. y Sinclair, A. J. (2002). Bread enriched with microencapsulated tuna oil increases plasma docosahexaenoic acid and total omega-3 fatty acids in humans. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* **11** (4), 285-291.
- Yoshida, H. y Kisugi, R. (2010). Mechanisms of LDL oxidation. *Clinica Chimica Acta* **411** (23-24), 1875-1882.
- Young, O. A.; Watkins, S.; Oldham, J. M. y Bass, J. J. (1995). The role of insulin-like growth factor I in clenbuterol-stimulated growth in growing lambs. *Journal of Animal Science* **73** (10), 3069-3077.
- Zelenka, J.; Fajmonova, E.; Komprda, T.; Kladroba, D. y Sarmanova, I. (2003). Effect of dietary linseed and sunflower oil on cholesterol and

fatty acid contents in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Czech Journal of Animal Science* **48 (8)**, 321-330.

Zhao, G.; Etherton, T. D.; Martin, K. R.; West, S. G.; Gillies, P. J. y Kris-Etherton, P. M. (2004). Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *The Journal of Nutrition* **134 (11)**, 2991-2997.

Zhao, S. M.; Ren, L. J.; Chen, L.; Zhang, X.; Cheng, M. L.; Li, W. Z.; Zhang, Y. Y. y Gao, S. Z. (2009). Differential expression of lipid metabolism related genes in porcine muscle tissue leading to different intramuscular fat deposition. *Lipids* **44 (11)**, 1029-1037.

Zhou, G. H. y Zhao, G. M. (2007). Biochemical changes during processing of traditional Jinhua ham. *Meat Science* **77 (1)**, 114-120.

Ziech, D.; Franco, R.; Georgakilas, A. G.; Georgakila, S.; Malamou-Mitsi, V.; Schoneveld, O.; Pappa, A. y Panayiotidis, M. I. (2010). The role of reactive oxygen species and oxidative stress in enviromental carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-Biological Interactions* **188 (2)**, 334-339.

Zingg, J. M. (2007). Vitamin E: an overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine* **28 (5-6)**, 400-422.

Zingg, J. M. y Azzi, A. (2004). Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current Medicinal Chemistry* **11 (9)**, 1113-1133.

Zuliani, G.; Galvani, M.; Leitersdorf, E.; Volpato, S.; Cavalieri, M. y Fellin, R. (2009). The role of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in the

treatment of dyslipidemias. *Current Pharmaceutical Design* **15 (36)**, 4087-4093.





